EXPOSÉ

DES

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

DE

ANDRÉ MAYER

PROFESSEUR DE PHYSIOLOGIE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

PARIS (V^e)

LIBRAIRIE SCIENTIFIQUE J. HERMANN

6, RUE DE LA SORBONNE, 6

1922

TITRES ET FONCTIONS

Docteur en médecine (1900), Licencié ès sciences.

Chef des travaux au Laboratoire de Physiologie pathologique de l'École des Hautes Études (Collège de France, 1904).

Maître de Conférences au même Laboratoire (1906).

Directeur adjoint du Laboratoire de Physiologie physico-chimique de l'École des Hautes Études (Collège de France) (1908).

Professeur de Physiologie à la Faculté de Médecine de Strasbourg (1919).

Guerre 1914-1918. — Médecin aide-major aux armées (1914-1915).

Directeur du Laboratoire de Physiologie des Services chimiques de guerre (gaz de combat), (1916-1918).

Membre de la Commission d'études de la Toxicité des explosifs (Service des Poudres).

Membre de la Commission d'études des Intoxications par gaz (Service de Santé).

Délégué français aux Conférences interalliées des Services d'Études des gaz de combat.

1921. — Délégué français (conseiller expert) à la Conférence de Washington.

Membre de la Société de Biologie (1908).

Vice-président de la Société de Chimie biologique.

Lauréat de l'Académie des Sciences : Prix Godard, prix Monthyon (de Physiologie), prix Pourat.

Chevalier de la Légion d'honneur (à titre militaire), officier de l'Instruction publique.

INTRODUCTION

L'Anatomiste aperçoit dans un être vivant des organes d'aspect, de structure extrêmement divers. Il les décrit, il en montre les connexions; et tout naturellement, il va se demander : à quoi servent ces différents organes? quel est le rôle de chacun d'eux? C'est ainsi qu'est née la physiologie; et c'est là sa forme la plus ancienne : « Physiologia, anatomia animata. » Il s'en faut d'ailleurs qu'à toutes les questions qui surgissent ainsi, des réponses aient été données. Il y a bien des organes dont on ne connaît pas le rôle avec précision. Il y en a d'autres aussi sur la structure desquels on trouve des indications qui changent l'orientation des études physiologiques. Ainsi, de nos jours, la découverte du « tissu nodal » a modifié nos connaissances sur le mécanisme de l'action du cœur.

Cependant les organes ne sont pas isolés. Chez les êtres vivants supérieurs, ils se groupent en appareils; chacun d'eux concourt à une action commune, à l'accomplissement d'une « fonction », fonction respiratoire, digestive, circulatoire. Le physiologiste cherche à savoir par quels mécanismes cette coopération est assurée. Mais les appareils mêmes ne sont pas indépendants les uns des autres. Chaque appareil a sa fonction propre, et par elle il influe sur tous les autres; mais aussi, il ne peut subsister que grâce à tous les autres. Pour que l'organisme se maintienne pareil à lui-même malgré les modifications du milieu extérieur dans lequel il est placé, ou bien pour qu'il s'adapte à ces modifications, il faut qu'il y ait division du travail physiologique; mais il faut aussi qu'il y ait entre les grandes fonctions physiologiques une coordination parfaite. Il faut que soient constamment mis en jeu, dans l'organisme, de grands mécanismes de régulation. Ce fut l'œuvre principale des physiologistes du XIX[e] siècle que l'étude de ces coordinations physiologiques. Pour la poursuivre, ils se sont placés à des points de vue divers, ils ont multiplié leurs procédés d'investigation. Ils ont examiné comment les fonctions naissaient au cours du développement (embryologie); ils ont comparé les mécanismes par lesquels une même fonction est assurée chez les différents animaux (physiologie comparée); ils ont tenté de troubler les fonc-

tions soit par des mutilations (physiologie opératoire), soit par des intoxications (pharmacologie), soit par des maladies (pathologie expérimentale). Et, pour se rendre compte des troubles qu'ils produisaient, ils ont créé de belles méthodes d'exploration : telle, pour la fonction circulatoire, la méthode graphique, suivie de nos jours par la radiographie, l'électro-cardiographie.

Cette physiologie-là, elle aussi, est loin d'être achevée. Nous avons vu les progrès de la physiologie opératoire rénover l'étude du mécanisme des actions digestives, en permettant l'obtention de sucs purs; celle des mouvements volontaires, en rendant possible la discrimination des nerfs antagonistes. Grâce à une pharmacologie plus riche, l'étude du système nerveux sympathique a été renouvelée; la pathologie expérimentale nous a éclairés sur le mécanisme de la sécrétion urinaire, de certaines sécrétions internes, sur les réactions d'immunité.

Mais en même temps que se constituait la Physiologie des Fonctions, naissait une science nouvelle, l'Histologie. On apprenait que tout appareil est fait de tissus, tout tissu de cellules. Il importait donc de connaître les fonctions communes à toutes les cellules, les fonctions particulières de chaque espèce cellulaire; pour étudier les premières on s'est adressé aux êtres unicellulaires; les secondes, aux tissus spécialisés en choisissant dans chaque cas l'organe et l'espèce vivante où ils étaient le plus aisément accessibles à l'expérimentation.

Cette physiologie cellulaire, elle non plus, n'est pas épuisée. Il n'y a pas si longtemps qu'on a découvert une fonction cellulaire générale nouvelle, la phagocytose; et nous avons vu l'étude de l'excitabilité électrique rajeunir nos connaissances sur les cellules musculaires et nerveuses.

Ainsi les formes classiques de la physiologie peuvent encore être fécondes. Et cependant voici qu'apparaissent d'autres problèmes, qui vont en faire naître de nouvelles.

Un assemblage ordonné de mécanismes automatiques parfaitement réglés: voilà ce que montre la physiologie des fonctions; mais de mécanismes d'un ordre singulier, tous composés de cellules vivantes, enseigne la physiologie cellulaire. Ce sont donc des mécanismes qui entretiennent eux-mêmes leurs différentes pièces; et leur activité, qui a ce maintien pour condition, l'a aussi pour effet. Or les cellules, pièces ultimes des organismes, s'usent en fonctionnant, en vivant. Elles réparent leur usure. Que se passe-t-il au cours de ces deux grands processus? Voilà une première question d'ordre général. Une science fondamentale, la Chimie biologique, née de la Chimie organique, nous permet de l'aborder aujourd'hui avec fruit. Grâce à ses progrès nous pouvons, bien mieux que nos devanciers, connaître les corps qui entrent dans la composition des orga-

nismes, suivre leurs mutations dans l'intimité des cellules. Mais la connaissance de ces mutations n'épuise pas le problème qui nous est posé.

Veut-il transformer un Composé ? le chimiste est libre de choisir pour cela entre les propriétés physiques et les réactions chimiques possibles du corps qu'il étudie; il est maître de se servir à son gré, pour agir sur lui, de toutes les ressources — chaleur, pression, formes diverses de l'énergie — dont il peut disposer. Mais que ce même Composé entre dans une cellule vivante : il n'est plus ce corps isolé sur lequel on peut agir à volonté; il devient l'un des constituants du protoplasma.

Or ce protoplasma doit demeurer d'un type stable, pareil à lui-même. Dès lors une cellule peut-elle admettre l'entrée de n'importe quel corps, présentant n'importe quelle propriété, dans n'importe quelle proportion, pour subir des mutations sous l'action de n'importe quelle force? Evidemment non. Il faut que les propriétés de ce corps soient très particulières, qu'il entre dans la cellule en proportion parfaitement réglée et qu'il ne réagisse dans le protoplasma que suivant certains modes. Il est vrai que la vie n'est possible qu'au prix de certaines mutations de matière ; mais à l'intérieur d'une cellule vivante ces mutations ne peuvent s'accomplir que dans des conditions énergétiques étroitement définies.

Quelles sont ces conditions? Voilà la nouvelle question qui se présente. Question qui en amène tout de suite une autre : la conservation de la vie de l'organisme est automatique. Ces conditions, ces limitations qui doivent toujours être rigoureusement maintenues, ne peuvent donc l'être dans l'intérieur de la cellule que par l'interaction réciproque des constituants cellulaires, dans l'organisme entier que par l'interaction réciproque des cellules. Comment, par quels mécanismes sont assurées ces interactions?

Voilà les problèmes qui se posent aujourd'hui à nous. Il est clair que, pour les aborder, la science grâce à laquelle on relie les propriétés physiques des corps à leur constitution chimique, qui étudie les conditions mêmes des réactions chimiques, doit être du plus grand secours; et en effet ce sont surtout les résultats et les méthodes de la Chimie physique qui ont permis la naissance de cette Physiologie physico-chimique qui s'attaque à l'étude des mécanismes intimes de la vie cellulaire dans l'organisme.

Notre génération a vu naître ce mouvement d'études. Pour ma part, encouragé, soutenu par mes maîtres Dastre et François-Franck, avec un groupe d'amis au premier rang desquels je dois citer Georges Schaeffer, j'ai essayé d'y apporter ma contribution.

QUESTIONS POSÉES, IDÉES DIRECTRICES ET RÉSULTATS GÉNÉRAUX

I. — RECHERCHES SUR LA PRESSION OSMOTIQUE DES LIQUIDES ORGANIQUES ET LA CIRCULATION DE L'EAU DANS L'ORGANISME. CONSÉQUENCES PHYSIOLOGIQUES DES VARIATIONS DE PRESSION OSMOTIQUE DU SANG.

Les cellules vivantes, placées dans un milieu liquide, ne peuvent subsister que si la teneur de ce milieu en molécules dissoutes est maintenue entre certaines limites. Cette condition fondamentale de la vie a été dégagée par les recherches de De Vries, Pfeiffer, van t'Hoff, Hamburger. C'est l' « isotonie ». D'autre part, Barlow, Fano et Botazzi, Winter, Bousquet ont établi que dans les organismes supérieurs, le milieu intérieur (sang et lymphe) a toujours la même concentration moléculaire. Appliquant à ces organismes la notion de l'isotonie, j'ai cherché si, quelles que soient les conditions physiologiques, la concentration moléculaire du milieu intérieur se maintient fixe ; par quel mécanisme automatique elle se règle et ce qu'il advient quand ce mécanisme est forcé.

1. — J'ai reconnu qu'on ne peut faire varier la concentration des liquides de l'organisme qu'avec une extrême difficulté. Les animaux qu'on oblige à une sudation ou à une évaporation pulmonaire forcées ou encore qu'on prive totalement de boisson maigrissent considérablement, mais leurs humeurs présentent longtemps le même point cryoscopique. Cependant, au bout d'un certain temps, celui-ci varie ; la concentration moléculaire du sang augmente progressivement.

2. — Cette augmentation anormale amène des troubles caractéristiques qu'on peut reproduire expérimentalement en introduisant des solutions de cristalloïdes dans le sang. Lorsque la concentration de celui-ci atteint une valeur mesurée par le point cryoscopique $\Delta = -0°,72$, de graves phénomènes nerveux peuvent se déclencher. Il s'agit de crises présentant tous les symptômes de l'épilepsie externe

et interne. On savait depuis longtemps que les injections de chlorure de sodium concentrées produisent des convulsions; nous avons montré avec LALOU que l'injection de n'importe quel cristalloïde, même un sucre, peut produire des crises épileptiformes qui sont dues uniquement à l'augmentation de concentration moléculaire du sang, nocive par elle-même quand le point critique ($\Delta = -0°,72$) est dépassé. Il n'y a d'exception que pour certains corps sédatifs du système nerveux comme les bromures.

La discussion qui a suivi l'annonce de ces faits a nettement établi ce phénomène qu'on a appelé depuis l' « osmonocivité » des injections hypertoniques.

3. — L'organisme ne peut supporter une augmentation de concentration moléculaire du sang; dès que celle-ci s'élève, il faut donc que soient mis automatiquement en jeu des mécanismes régulateurs qui tendent à la ramener à sa valeur normale. J'ai essayé de dégager ces mécanismes; j'ai fait voir que toute élévation de la concentration moléculaire du sang dans un territoire vasculaire quelconque provoque aussitôt des modifications cardiovasculaires réflexes (vaso-dilatation locale et rénale, élévation de la pression artérielle) dont l'origine est due à une irritation de l'endothélium vasculaire et dont le centre paraît être bulbaire. Ces phénomènes circulatoires ont pour effet de produire un brassage du sang dans le territoire considéré; c'est un premier mécanisme régulateur. S'il est insuffisant, l'organisme doit faire appel à des réserves d'eau. Reprenant et complétant les recherches d'ENGELS, j'ai montré qu'il existe de pareilles réserves et qu'elles doivent être localisées, non dans les organes parenchymateux, mais dans le tissu cellulaire sous-cutané et intramusculaire. Enfin quand les réserves viennent à manquer, un mécanisme psycho-physiologique entre en jeu; la soif apparaît: soif d'origine générale qui est due non pas tant au manque d'eau qu'à l'augmentation de la concentration des liquides de l'organisme. C'est ce que montre bien l'étude de certains cas pathologiques; j'ai fait voir que chez les malades atteints de diabète insipide et qu'on prive de boisson, la concentration moléculaire des humeurs augmente rapidement. C'est alors qu'apparaît la soif et celle-ci peut être étanchée par absorption d'eau, mais non par celle de solutions salines.

Ces faits m'ont permis d'ébaucher une étude psycho-physiologique de la soif qui a servi de base aux recherches ultérieures sur le sujet.

II. — ÉTUDES SUR LA SÉCRÉTION URINAIRE.

Les connaissances nouvelles sur les propriétés physico-chimiques des solutions qui nous avaient guidé dans l'étude de la concentration moléculaire des

humeurs permettaient-elles d'éclairer le mécanisme des échanges d'eau et de cristalloïdes dans l'organisme et notamment les phénomènes d'absorption et de sécrétion ? Cette question a provoqué un grand mouvement d'études. Avec Lamy, nous avons entrepris un travail critique de longue haleine pour analyser à ce point de vue la sécrétion urinaire.

Cette sécrétion pose deux ordres de problèmes qui n'ont pas toujours été dissociés par les chercheurs : Un problème physiologique ou physico-chimique : par quel mécanisme les éléments de l'urine, eau, sels, etc., sont-ils extraits du sang et passent-ils à travers le rein ? Un problème anatomo-physiologique : quelle est la fonction des différentes parties du rein, glomérules, tubes contournés, tubes droits ?

Abordant d'abord le premier problème, nous avons examiné si les mécanismes invoqués par les différents auteurs pouvaient rendre compte du passage des cristalloïdes et de l'eau. En ce qui concerne les cristalloïdes comme le chlorure de sodium et les sucres, par des comparaisons systématiques portant sur le sang et l'urine pris au même moment au cours de polyuries expérimentalement provoquées, nous avons pu montrer que leur passage ne peut être ni le fait d'une filtration, ni le fait d'une dialyse simple; que même il est impossible d'admettre que les cellules rénales jouent dans leur élimination le rôle passif d'une membrane invariable. Nous avons pu déterminer en effet des conditions expérimentales précises dans lesquelles, pour une même concentration et un même débit d'un cristalloïde comme le sucre ou le chlorure de sodium dans le sang, on trouve dans l'urine des teneurs variables de ce cristalloïde. Bien plus, cette variation de « perméabilité » rénale peut porter sur tel ou tel corps exclusivement. Il y a donc, dans des conditions que nous pouvons préciser, une véritable sélection faite par les cellules rénales, sélection tantôt négative et tantôt positive.

Même le passage de l'eau est impossible à expliquer en invoquant, comme on l'avait fait, la filtration, la diffusion ou l'osmose. Nous avons pu, en effet, dans des conditions définies, provoquer d'abondantes sécrétions aqueuses sans qu'il y ait augmentation de la pression du sang, ce qui exclut l'idée d'une filtration ; sans augmentation du débit du sang, ce qui exclut l'idée d'un mécanisme analogue à la diffusion ; ou bien encore, l'urine étant moins concentrée que le sang, ce qui exclut l'idée d'un mouvement osmotique. Les cellules rénales jouent donc un rôle actif même dans le passage de l'eau. Ainsi le rein exécute un travail réel au sens physique du mot et un travail variable ; il se comporte comme une glande.

Au point de vue histologique et cytologique, peut-on trouver dans le rein les éléments d'une glande! capillaires sanguins, espaces lymphatiques, épithélium sécrétoire? Les recherches poursuivies avec Rathery sur le rein des Mammifères et étendues à d'autres groupes d'animaux nous les ont montrés. Nous avons d'abord fait voir que toutes les fois qu'il se produit une polyurie, les tubes urinifères qui sont normalement collés les uns contre les autres s'écartent, de grands espaces interbulaires apparaissent et se remplissent de liquides. Il y a donc dans le rein un dispositif analogue à celui des espaces lymphatiques des glandes.

Nous nous sommes demandé ensuite où il fallait chercher les cellules actives du tissu rénal. Nous n'avons trouvé aucune preuve histologique d'un rôle sécrétoire du glomérule et nous avons été amenés à douter de son rôle sécrétoire. Par contre, nous avons attiré l'attention sur une fonction de cet organe qui avait échappé jusque-là : le rein est l'organe dont le pouls capillaire est le plus ample ; le glomérule est le dispositif qui rend compte de cette amplitude : c'est un organe pulsatile et l'on peut penser que ses battements ont pour effet de favoriser le cheminement de l'urine dans les tubes urinifères.

Au contraire du glomérule, les cellules des tubes urinifères et surtout des tubes contournés présentent des modifications profondes au cours de la sécrétion. En outre de celles qui ont été signalées par nos devanciers (Disse, Sauer, etc.), nous en avons mis en évidence de nouvelles ; au cours des sécrétions forcées on constate un remaniement de la structure protoplasmique, caractérisé par la redistribution des granulations fuchsinophiles et la multiplication de vacuoles particulières.

Ces faits nous ont amenés à une conception anatomo-physiologique de la sécrétion urinaire différente de la conception classique : la sécrétion se ferait en deux temps. Dans un premier temps, il y aurait transsudation de liquide à travers les parois des capillaires dans les espaces intertubulaires. Dans un second temps, le liquide transsudé, élaboré par les cellules actives des tubes urinifères, deviendrait l'urine, serait sécrété dans les tubes où il cheminerait vers le dehors, en partie grâce aux mouvements de piston que font à chaque pulsation les glomérules placés à l'extrémité du tube.

III. — Études sur la viscosité des liquides de l'organisme.

L'impossibilité d'expliquer les échanges organiques par des phénomènes osmotiques simples conduisait à étudier les autres facteurs physiques qui inter-

viennent dans l'économie. Une propriété commune aux protoplasmas et aux liquides de l'organisme, leur viscosité, me parut jouer un rôle que j'ai essayé de dégager. J'ai montré que, d'une façon générale, l'augmentation de viscosité a pour effet de diminuer la vitesse des échanges et que, pratiquement, la viscosité des liquides de l'organisme apparaît comme une force de résistance à la tension osmotique.

Mais quelle est la cause de la viscosité des liquides organiques ? Après avoir construit un viscosimètre applicable aux études physiologiques, j'ai étudié la viscosité du sérum et du plasma sanguin. Tandis que celle du sérum oscille peu, à l'état normal, autour d'une valeur constante, celle du plasma varie beaucoup. Or, ces variations sont largement indépendantes de la densité du plasma et de la quantité de matières albuminoïdes qu'il contient. Pour les expliquer, il faut donc faire appel à l'idée d'un changement d'état interne du liquide. J'ai recherché s'il existe des changements de ce genre, et j'ai pu les mettre en évidence en faisant agir sur les liquides organiques des sels neutres, des acides et des alcalis, des agents précipitants et surtout la chaleur. J'ai pu montrer que lorsque la coagulation des albuminoïdes va se produire, avant qu'aucun autre signe, même l'opalescence, même l'« effet Tyndall », n'en avertisse l'observateur, il existe déjà des variations internes se traduisant par une augmentation de viscosité. Cette augmentation va s'accentuant de plus en plus jusqu'à la coagulation. L'allure du phénomène est d'ailleurs profondément influencée par la concentration en cristalloïdes de la liqueur considérée.

Depuis que je l'ai signalé, ce phénomène a donné lieu à de nombreuses études.

Ces études sur la viscosité des liquides organiques nous ont amené à considérer le problème de la liaison des corps présents dans ces liquides avec l'eau. Ce sont elles qui nous ont conduit à nous occuper en 1903 de l'état colloïdal et des propriétés des colloïdes.

IV. — RECHERCHES SUR L'ÉTAT COLLOÏDAL, LA STABILITÉ DES COLLOÏDES, LES COMPLEXES COLLOÏDAUX.

Un corps à l'état colloïdal n'est pas en solution ; il n'est pas réparti dans un liquide sous forme de molécules ou d'ions isolés. Il est cependant lié d'une façon particulière à un solvant (l'eau dans le cas des colloïdes organiques). L'étude des facteurs d'où dépendent cette liaison est capitale ; elle donne la clef d'un très grand nombre de phénomènes biologiques.

Il se trouve qu'on est maître de quelques-uns d'entre eux, et qu'on peut faire varier expérimentalement la liaison du colloïde et du solvant ; on peut soit la diminuer, séparer le colloïde du solvant, le « précipiter » ; soit au contraire l'augmenter, accroître la stabilité du colloïde. Il suffit pour cela d'ajouter au milieu des électrolytes (suivant le cas des acides, des bases ou des sels) ; ou bien encore d'autres colloïdes.

Linder et Picton ont donné une explication de ce phénomène. Ils ont reconnu (et nous avons vérifié ces faits) que, placés dans un champ électrique, certains colloïdes sont repoussés par le pôle positif, d'autres par le pôle négatif ; que les premiers sont « précipités » de leur pseudo-solution si on l'additionne d'une base ou d'un sel et alors la précipitation dépend du cathion ; que les seconds sont précipités si on les additionne d'un alcali ou d'un sel et alors la précipitation dépend de l'anion. Tout se passe donc comme si les colloïdes portaient une charge électrique, et comme si la séparation du colloïde et du solvant se produisait quand on la neutralise. Il fallait approfondir ces données. Les chercheurs ont dû examiner si la charge électrique est réelle ; quelle est la cause de cette charge ; comment les colloïdes l'acquièrent ; — puis comment les colloïdes la perdent, quelles sont les modalités de cette neutralisation ; quels en sont les effets au point de vue de la stabilité du colloïde, — enfin quelles conséquences on peut tirer de la connaissance du « signe électrique » des corps à l'état colloïdal. — Ces phénomènes examinés, il fallait voir comment on peut appliquer les connaissances acquises à l'étude des réactions des colloïdes les uns sur les autres. Nous avons essayé d'apporter notre contribution à ces recherches.

1° *Réalité de la charge.* — En utilisant l'un des premiers échantillons de radium préparés par M. et Mme Curie et qu'ils nous avaient confié, nous avons pu, avec Victor Henri, apporter une preuve directe de la charge des colloïdes en montrant que les radiations β du radium déchargent les colloïdes positifs.

2° *Conditions déterminant la charge électrique.* — Il semble que pour tous les colloïdes le « signe électrique » dépende d'une combinaison avec les ions positifs ou négatifs d'un électrolyte présent dans le milieu. C'est ce que Perrin a montré pour les poudres insolubles mises en suspension dans l'eau ; c'est ce qu'Hardy a fait voir pour les colloïdes organiques comme l'albumine qui acquièrent un signe par addition d'acide ou d'alcali. Pour ce qui est des colloïdes inorganiques, nous avons montré avec Sallis que pour qu'ils puissent présenter le phénomène du transport dans un champ électrique il faut d'abord qu'ils se décomposent partiellement en leurs constituants et subissent un début d'électrolyse.

3° *Établissement de la charge électrique.* — Nous avons essayé de préciser dans le détail comment s'exerce l'action des acides et des alcalis sur l'albumine pour lui conférer son signe. Nous avons montré que ce phénomène se produit d'autant plus vite que la température est plus élevée; qu'il nécessite d'autant plus d'acide ou de base qu'il y a plus de sels neutres présents dans la liqueur; qu'il varie avec la nature de l'acide ou de la base. Ces recherches nous ont permis de reprendre l'étude des alcali-albumines et surtout des acidalbumines.

4° *Neutralisation de la charge. — Précipitation des colloïdes.* — Nous avons vérifié les règles formulées par Linder et Picton pour la précipitation par les électrolytes et nous en avons tiré, en ce qui concerne les colloïdes organiques et en particulier les albumines, une conséquence générale : si on les purifie préalablement de tout électrolyte par dialyse, l'addition d'acide, de base ou de sel ne produit plus la précipitation. Si, pour remplacer les électrolytes enlevés, on ajoute au milieu des sels neutres, la précipitation de l'albumine n'en est pas facilitée. Par contre, elle peut de nouveau être provoquée par neutralisation si on ajoute, d'abord et suivant les cas, une faible dose d'un acide ou d'une base, d'un sel acide ou d'un sel alcalin.

5° *Conséquences qu'on peut tirer de la connaissance du signe électrique.* — La connaissance du signe électrique d'un colloïde nous donne un moyen d'agir sur sa liaison avec le solvant. En effet, la précipitation d'un colloïde n'est que le témoignage de la rupture de cette liaison. En étudiant cette précipitation par divers procédés (viscosité du milieu, diffusion de la lumière, examen ultramicroscopique, conductivité électrique), on peut se convaincre du fait qu'elle n'est que la fin d'un long processus continu qui a pour effet d'augmenter progressivement la grandeur des granules colloïdaux. On peut donc penser que les mêmes agents qui, à forte dose, précipitent les colloïdes, peuvent, lorsqu'on les emploie à très petite dose, augmenter progressivement la grosseur de ces granules. Inversement, les agents qui remettent en suspension un colloïde précipité diminuent la grosseur des grains d'un colloïde en suspension et augmentent sa stabilité. Dès lors, étant donné le signe électrique d'un corps à l'état de suspension ultramicroscopique, on peut prévoir quelle réaction (acide ou basique) il faut donner au milieu dans lequel il est placé pour rapprocher ce corps soit de l'état de solution, soit de l'état insoluble. Avec Schaeffer et Terroine, nous avons montré que le fait est vrai pour un très grand nombre de colloïdes inorganiques et organiques.

Nous avons fait une application de cette donnée en étudiant les caractères colloïdaux de la série des savons et montré que, suivant la réaction du milieu, les

composés d'acides gras — progressivement de moins en moins solubles au fur et à mesure que s'élève leur poids moléculaire — présentent toutes les transitions entre les différents états des colloïdes, depuis le précipité jusqu'à la gelée.

6° *Action des colloïdes les uns sur les autres.* — *a*) *Colloïdes de même signe.* — On avait établi et nous avons vérifié que, dans le cas où les colloïdes ont le même signe électrique, la présence d'un colloïde fortement lié à son solvant a pour effet de conférer un caractère de stabilité aux colloïdes aisément précipitables présents dans le milieu. Nous avons étudié, avec Henri, Lalou et Stodel, les modalités de cette « stabilisation ».

b) *Colloïdes de signe opposé.* — Notre étude a porté surtout sur les réactions de deux colloïdes de signe opposé, ce qui nous a amenés à la constatation d'un phénomène important; Linder et Picton avaient montré qu'un colloïde peut être séparé de son solvant, « précipité » par l'addition d'un colloïde de signe opposé. Nous avons fait voir avec Henri, Lalou et Stodel que ce n'est que pour des proportions données des colloïdes réagissants qu'il y a ainsi un minimum de liaison avec le solvant. En fait, la précipitation d'un colloïde par un colloïde de signe opposé est *un phénomène réversible*. Le précipité formé est soluble dans un excès de l'un ou de l'autre des colloïdes. Il se forme alors entre les deux colloïdes réagissants ce que nous avons appelé *des complexes colloïdaux* qui se comportent comme des combinaisons d'équilibre et qui ont des propriétés opposées suivant le colloïde prédominant. Nous avons précisé les conditions de formation, de précipitation, de redissolution de ces complexes dont l'existence est un phénomène d'une grande généralité et d'une grande importance en biologie.

V. — Recherches sur les « complexes colloïdaux » d'albuminoïdes, d'albuminoïdes et de lipoïdes.

La connaissance des conditions de formation des complexes colloïdaux permet d'éclairer toute une série de phénomènes biologiques. En effet, j'ai pu montrer que plusieurs des corps les plus importants qui entrent dans la constitution du protoplasma sont susceptibles de former des complexes de ce genre. C'est ainsi que les divers protéiques, que les albuminoïdes, peuvent en former entre eux un très grand nombre. J'ai étudié les conditions de formation et de précipitation de ces complexes, j'ai fait voir que certaines propriétés jusque-là inexplicables des protéiques (précipitabilité, solubilité) n'étaient qu'un cas particulier de celles des complexes colloïdaux. De même, j'ai montré avec Terroine, qu'on peut obtenir dans des conditions déterminées des complexes d'albumi-

noïdes et de lipoïdes et qu'en particulier on peut former artificiellement des corps analogues à ceux qu'on avait décrits sous le nom de lécithalbumines et de jécorines.

VI. — ÉTUDES ULTRAMICROSCOPIQUES SUR LES CONSTITUANTS DU PROTOPLASMA. CONSTITUTION DU PROTOPLASMA ANIMAL ET DES LIQUIDES DE L'ORGANISME.

Nos travaux antérieurs nous avaient permis de mettre en évidence le caractère colloïdal de certains constituants organiques des cellules vivantes. L'emploi de l'ultramicroscope allait rendre possible une étude nouvelle de quelques-uns de ces caractères.

Dès l'invention de cet appareil, un certain nombre d'auteurs, examinant des colloïdes organiques à l'ultramicroscope (albumine en préparation commerciale, diastases, glycogène), y avaient décrit les mêmes granulations animées de mouvement brownien, qu'on peut voir dans les solutions colloïdales de métaux, sulfures, etc.

J'ai pu montrer tout d'abord que, d'après les observations précédentes, faites sur des suspensions, on ne pouvait préjuger l'état réel des colloïdes organiques. Au point de vue optique, ces colloïdes se présentent, en effet, sous deux états complètement différents : celui des gels, des gelées organiques qui sont optiquement homogènes et paraissent uniformément noirs à l'ultramicroscope; et celui des hydrosols qui se montrent à l'ultramicroscope constitués par un très grand nombre de points brillants animés d'un vif mouvement brownien. Or, tout processus qui aboutit à une précipitation, à une floculation des éléments des hydrogels a pour effet de faire apparaître sous les yeux de l'observateur des granulations brillantes de plus en plus nombreuses dans la gelée primitivement optiquement vide. J'ai décrit en détail ce phénomène et j'ai étudié systématiquement la précipitation des colloïdes ainsi que les processus de coagulation dans le plasma, le lait, etc. Ayant ainsi précisé les causes d'erreur qu'il faut éviter lorsqu'on veut se rendre compte de l'état ultramicroscopique réel des colloïdes organiques, j'ai pu étudier, avec Mme Gatin-Gruzewska et Georges Schaeffer, les gelées d'albumine et les empois d'amidon.

Passant de l'étude des constituants organiques à celle des liquides de l'organisme, nous avons montré, avec Schaeffer, que ces liquides, et en particulier le plasma, ont les caractères des gels.

Dès lors nous étions conduits à nous demander si le protoplasma lui-même n'appartenait pas à la classe des gels.

On sait qu'on a représenté le protoplasma comme composé de granulations, de filaments, de réseaux, comme semblable à une émulsion. Lors de l'apparition de l'ultramicroscope, Gaidukow avait annoncé que le protoplasma est un « sol », que la vie est caractérisée par les mouvements browniens de granulations dont l'arrêt est le signe de la mort. Nos études sur le protoplasma animal nous ont montré qu'il est en réalité dans les cellules vivantes, constitué, quant au fond, par un « gel ». Il n'a d'ailleurs pas que les caractères optiques des gels, il en a tous les autres, et l'on peut préciser qu'il se comporte comme un gel alcalin ou négatif. Ces faits avancés par nous ont été confirmés en particulier par Fauré-Fremiet sur le protoplasma des Protozoaires, puis par un grand nombre d'auteurs, et l'expression « gel protoplasmique » est aujourd'hui couramment employée.

On va voir comment, de l'existence même du gel protoplasmique, nous avons pu tirer des conséquences sur la constitution du protoplasma.

VII. — Recherches sur les constantes cellulaires et les équilibres cellulaires.

Le protoplasma est un gel formé de complexes colloïdaux en équilibre. Cette constatation éclaire les conditions physico-chimiques de l'existence cellulaire. L'universalité de certaines propriétés présentées par tous les protoplasmas ne peut dépendre que de ce qu'il se trouve dans tous, certains constituants, toujours les mêmes ou du moins voisins les uns des autres par leurs propriétés physico-chimiques. Mais on rencontre chez les êtres vivants des cellules de types très divers; et, bien que toutes aient des propriétés communes, elles ne les présentent pas toutes au même degré. On peut penser que cela est dû à ce que les constituants qu'elles ont en commun ne se trouvent pas dans toutes les cellules au même taux, à une même teneur. L'individualité du type cellulaire serait donc due, au moins pour une part, aux diverses proportions des constituants protoplasmiques. Mais le type d'une cellule donnée est stable; la cellule demeure pareille à elle-même. Or la fixité du type cellulaire est basée sur la fixité de sa composition. Si, donc, certains constituants y sont dans des proportions données, ces proportions ne doivent varier que dans de faibles limites; la teneur, le taux de chaque constituant fondamental doivent être une « constante » de la cellule; cela ne signifie pas d'ailleurs que les constituants cellulaires sont invariables, mais seulement que s'ils sont absorbés, détruits, rejetés au cours des échanges, le régime de ces variations est tel que la proportion des constituants demeure, à l'état normal, à peu près la même.

D'autre part, les différentes substances qui entrent ainsi dans la composition

du protoplasma comme constituants fondamentaux sont douées de toutes sortes de propriétés physico-chimiques qui ne sont point les mêmes, qui peuvent même être opposées les unes aux autres. Pour que la cellule se maintienne stable, il faut donc que ses propriétés s'équilibrent, sans cela la cellule se dissocierait. L'existence même de la cellule implique donc un équilibre entre chacun de ses constituants permanents et tous les autres, entre les propriétés physico-chimiques de ses constituants permanents. Il doit exister pour chaque type cellulaire un équilibre protoplasmique défini, différent d'un type à l'autre, modifiable dans de certaines limites au cours de l'activité cellulaire. Telles sont les idées directrices qui nous ont poussés, G. Schaeffer et moi, à entreprendre une laborieuse série d'études sur la composition du protoplasma et les modifications de cette composition.

Nous avons abordé successivement les deux problèmes : d'abord, chaque cellule est-elle définie par une certaine proportion des éléments fondamentaux du protoplasma, dont les valeurs seraient des « constantes » de la cellule?

Puis les différents constituants fondamentaux du protoplasma sont-ils en équilibre?

Y a-t-il des « constantes cellulaires »?

Y a-t-il un « équilibre cellulaire »?

On admettait, et nous avons vérifié, que la teneur des cellules en eau ne varie que dans des limites très étroites; on admettait la constance des cendres, partant des substances minérales dissoutes et partant de leur pression osmotique; mais pour les constituants complexes du protoplasma, on était dans l'incertitude. En particulier, on ne pouvait penser à ranger parmi les constituants fixes les composés d'acides gras, considérés jusqu'alors comme de simples réserves énergétiques; ou encore les autres corps lipoïdes. C'est au contraire l'idée à laquelle nos recherches sur les mitochondries, sur l'immunité, que nous résumerons plus loin, nous amenaient. Pour la vérifier, il fallait, d'abord, établir des méthodes analytiques et ensuite exécuter de nombreuses séries de dosages. Nous l'avons fait et nous avons vu non seulement que les éléments lipoïdes existent dans toutes les cellules que nous avons examinées, mais encore qu'ils y existent dans une proportion définie; et que cette proportion est toujours la même dans une espèce cellulaire donnée; c'est ce que nous avons appelé la « constance lypocytique » des tissus. Ainsi, par exemple, la cholestérine, les phosphatides existent à un taux qui, dans chaque espèce animale, est caractéristique des cellules d'un organe donné. Bien plus, cette teneur est presque la même, pour un même organe, dans les différentes espèces d'un même groupe, dans les cellules du foie de tous les Mammifères, par exemple. Et enfin, on peut

étendre cette constance de la teneur des cellules à l'organisme tout entier : il y a une « constance liposomatique » comme il y a une « constance lipocytique ». Il est donc possible d'établir sur ces données une véritable « biométrique chimique ».

Ces constituants, qui se trouvent en proportion caractéristique dans les protoplasmas cellulaires sont-ils en équilibre entre eux? Ils entrent dans la cellule avec toutes leurs propriétés physico-chimiques, ils en dotent donc la cellule et précisément dans la mesure où ils y sont présents. Or, certains d'entre eux ont des propriétés physico-chimiques opposées : l'existence de la cellule ne peut pas ne pas impliquer l'existence d'équilibre entre ces propriétés opposées.

Supposons qu'il en soit bien ainsi. Puisque la cellule est stable, si on connaît les proportions d'un nombre suffisant de ses constituants fondamentaux, on doit pouvoir en déduire celle d'un autre. C'est cette idée que nous avons appliquée au problème de la teneur des cellules en eau, ce corps formant, on le sait, la plus grande partie du protoplasma.

De nos recherches antérieures il résultait que les constituants cellulaires forment des gels colloïdaux et que le protoplasma qui résulte de leur mélange est un gel négatif; que, d'autre part, tous les protoplasmas contiennent, en même temps que des albuminoïdes et des sels, des lipoïdes. Si l'existence du protoplasma résulte bien d'un équilibre physico-chimique, la teneur d'un de ses constituants, l'eau, dépend de celle de tous les autres ou encore du rapport de ces teneurs. Nous avons émis l'hypothèse que les lipoïdes agissent comme facteur limitatif de l'imbibition par l'eau du gel albuminoïde et que, par contre, un autre élément, la cholestérine, favorise l'imbibition. Par conséquent, l'imbibition des cellules par l'eau devait dépendre du rapport $\left[\frac{\text{cholestérine}}{\text{composés d'acides gras}}\right]$, rapport que nous avons appelé « coefficient lipocytique ». Or, les faits montrent qu'*in vivo*, les teneurs des divers tissus en eau se classent dans le même ordre que leur coefficient lypocytique. A la vérité, *in vivo*, l'imbibition des cellules par l'eau est assez loin du maximum possible : cela est dû en partie à ce que l'équilibre cellulaire dépend d'un autre facteur encore, les électrolytes, surtout ceux à cathions bivalents ; et nous avons montré comment l'interaction des lipoïdes et des électrolytes peut limiter l'imbibition. *In vitro*, en éliminant l'action des électrolytes, on peut atteindre l'imbibition maxima. On voit alors que les tissus se gonflent d'autant plus dans l'eau que leur coefficient lipocytique est plus fort ; qu'en particulier, les globules rouges des différentes espèces animales sont d'autant plus facilement hémolysés par l'eau que leur coefficient lipocytique est

plus fort ; qu'à des modifications anormales du coefficient lipocytique correspondent des imbibitions anormales. Nous avons même pu établir une relation numérique précise entre l'imbibition maxima possible d'un tissu et son coefficient lipocytique.

Il existe donc bien, et pour chaque espèce cellulaire, un « équilibre protoplasmique », un « équilibre cellulaire » entendu comme nous l'avons défini.

VIII. — RECHERCHES SUR LES MODIFICATIONS DES ÉQUILIBRES CELLULAIRES A L'ÉTAT NORMAL ET PATHOLOGIQUE.

Comment se modifient les équilibres cellulaires au cours du fonctionnement normal ou pathologique des cellules ? C'est là un très gros problème que nous avons commencé à aborder avec G. SCHAEFFER.

Pour attaquer cette question, nous avons cherché tout d'abord s'il existe des variations quantitatives des constituants des tissus qui soient corrélatives de leur activité, et nous avons fait porter en premier lieu nos recherches sur les lipoïdes.

Au point de vue de l'activité des échanges, on peut diviser les animaux en deux groupes : — les homéothermes qui maintiennent toute l'année leur activité, — les hibernants, et les poïkilothermes qui ont une activité d'intensité variable suivant l'époque de l'année. Or, nos recherches nous ont montré que, tandis que chez les homéothermes la composition chimique des tissus varie peu, au contraire, chez les hibernants et les poïkilothermes la composition varie suivant l'époque de l'année. Les homéothermes sont, avons-nous dit, « homéochymes », les poïkilothermes sont « poïkilochymes ».

Chez les homéothermes eux-mêmes on peut, en se plaçant dans les conditions extrêmes, faire varier considérablement l'activité des tissus ; par exemple en faisant baisser brutalement la température de l'animal de façon à l'obliger à accroître ses oxydations pour revenir à la normale. Dans ces conditions, on observe des modifications importantes de la composition des tissus, notamment du foie ; il en est de même quand on produit une fièvre expérimentale. Ces modifications disparaissent d'ailleurs quand l'animal revient à l'état normal.

Enfin nous avons pu montrer que quand on provoque des lésions permanentes des tissus, par exemple, des lésions du foie et du rein, comme nous l'avons vu avec RATHERY et AMBARD, la composition des cellules et leur état d'équilibre varie ; les lésions correspondent à une modification d'ordre physicochimique. Les écarts, autour de l'état d'équilibre physiologique, peuvent être alors assez considérables ; ils sont d'ailleurs irréversibles.

Aux modifications physiologiques et pathologiques des tissus correspondent donc des modifications physico-chimiques se traduisant par des modifications de la proportion des constituants protoplasmiques et des variations des équilibres cellulaires.

IX. — RECHERCHES SUR LES MITOCHONDRIES.

Mais ce n'est pas seulement l'activité cellulaire qui dépend de l'équilibre des constituants protoplasmiques, c'est, dans une certaine mesure, la structure de la cellule.

L'étude des composés d'acides gras qui se trouvent faire partie de tous les protoplasmas, et en proportion caractéristique, nous l'a montré. On peut en effet se demander comment se traduit leur existence dans la forme cellulaire. Overton et ses collaborateurs, qui avaient attiré l'attention sur le rôle physiologique des lipoïdes, les croyaient localisés dans la membrane cellulaire. Nos travaux sur les mitochondries nous ont permis de donner à cette question une réponse tout à fait différente.

Les mitochondries sont, on le sait, des éléments fuchsinophiles dont l'existence a été mise en évidence dans les cellules les plus diverses, — avec Rathery, nous les avons décrites dans les cellules du rein et du foie, — et qu'on est peu à peu arrivé à considérer comme des éléments normaux de toute cellule vivante. On s'est naturellement demandé quelle est leur nature; Altmann, qui les avait découvertes, les croyait capables de se transformer en corps gras. Pour d'autres raisons, plusieurs chercheurs avaient émis l'hypothèse qu'elles sont de nature lipoïde. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons entrepris trois séries de recherches convergentes :

1° Après avoir, avec Fauré-Fremiet et Schaeffer, étudié systématiquement la microchimie des corps gras, nous avons essayé de reconnaître ces corps dans les mitochondries par une analyse directe. Cela nous a apporté des présomptions en faveur de l'hypothèse de leur nature lipoïde.

2° Une autre voie s'est montrée plus fructueuse. Nous avons pensé que la connaissance des principes physico-chimiques sur lesquels étaient fondées les méthodes empiriques qui permettaient aux histologistes de mettre les mitochondries en évidence, nous renseignerait sur la nature de ces éléments. Nous avons reconnu que l'efficacité de ces méthodes reposait sur le fait que toutes insolubilisaient ou transformaient les composés d'acides gras. En particulier les meilleures d'entre elles agissent en oxydant les acides gras non saturés, et la connais-

sance de ce fait nous a permis d'imaginer toute une série de méthodes nouvelles donnant les mêmes résultats que les meilleures méthodes classiques. D'un ensemble d'études de ce genre il est résulté que les mitochondries sont constituées, au moins pour une part, de corps gras ; que ces corps ne sont ni des savons ni des graisses neutres, mais d'autres éléments lipoïdes — probablement des phosphatides — contenant des acides gras non saturés et formant des complexes avec les albuminoïdes.

3° Nous avons pu aller plus loin. Nous avions montré, avec G. Schaeffer, que la composition des cellules en éléments lipoïdes est relativement fixe ; c'est cette composition qui correspond à la morphologie normale de la cellule. Dans les états physiologiques forcés et dans les états pathologiques, la composition des cellules en lipoïdes varie. D'autre part, une longue étude faite avec Rathery nous avait montré que, précisément dans les mêmes états, on observait une modification profonde des mitochondries. Celles-ci ou bien disparaissent de la cellule (cytolyse) ou bien s'accroissent dans des proportions considérables et finissent par envahir tout le protoplasma cellulaire (homogénéisation).

Dès lors il était naturel de se demsnder s'il y avait parallélisme entre les modifications morphologiques et les modifications chimiques que nous avions observées. Nos recherches faites avec Mulon sur la surrénale, avec Fauré-Fremiet sur le myocarde et surtout la très longue recherche faite avec Rathery sur la cellule hépatique nous ont montré que ce parallélisme existe bien et que les variations morphologiques des mitochondries suivent les variations du tissu en phosphatides.

Ainsi se trouvait éclairée la nature des mitochondries et reliées entre elles des recherches chimiques, physiologiques et cytologiques jusque-là sans lien ; cela permettait d'émettre une hypothèse de travail sur le rôle des mitochondries dans les phénomènes d'oxydation dont la cellule est le siège.

X. — Recherches sur l'immunité.

Les résultats généraux de nos recherches peuvent être appliqués à l'étude des phénomènes d'immunité. On sait que lorsqu'un microorganisme, une cellule ou même certaines substances étrangères sont introduites dans l'organisme, celui-ci réagit, et cette réaction se traduit par l'apparition de propriétés particulières du sang. On explique ces propriétés par la formation de substances nouvelles spéciales, les anticorps. Nous nous sommes demandé si dans un certain nombre de cas, celui des précipitines, celui des hémolysines, on ne

pourrait pas plus simplement rendre compte des modifications du sérum par des variations quantitatives de ses éléments.

L'injection dans le péritoine d'un lapin d'organes broyés ou même, comme nous l'avons vu avec Bierry, de nucléoprotéides d'organes, rend le sérum de l'animal préparé « précipitant » pour l'albumine. Nous avons montré avec G. Schaeffer que cette action provient tout d'abord de ce que les organes ainsi injectés se digèrent, s'autolysent; on observe l'apparition de la même propriété du sérum lorsque par une lésion quelconque on provoque la cytolyse d'un organe. Dès lors on peut se demander si ce ne sont pas ces produits de cytolyse qui, passant dans le sang et en modifiant la composition, font apparaître la propriété précipitante ou, comme on dit, la « précipitine ».

Or, une étude antérieure nous avait montré qu'*in vitro* les acides gras saturés peuvent produire des acidalbumines dont le pouvoir précipitant pour l'albumine est considérable et il se trouve que ces acides gras sont parmi les plus importants des produits de la cytolyse. On pouvait donc se demander si en les injectant à un animal on n'amènerait pas l'apparition de précipitines typiques dans son sérum. C'est ce qui se produit, en effet. Ainsi nous avons, pour la première fois, créé une « précipitine » spécifique avec tous ses caractères en injectant non plus un « antigène » mais une substance chimiquement définie.

Ces résultats nous ont encouragés à aborder le problème des « hémolysines » dans un esprit différent de celui de nos devanciers. Certains sérums ont normalement le pouvoir d'attaquer et de dissoudre les globules d'autres espèces. On peut faire naître ce pouvoir en injectant des globules rouges d'une espèce étrangère. Or, le pouvoir d'attaquer les globules d'une espèce donnée n'est pas également présenté par les sérums des différentes espèces animales, et, inversement, le sérum d'une espèce donnée n'hémolyse pas également les globules des différentes espèces. Étudiant successivement les « hémolysines » naturelles et les « hémolysines » acquises, nous avons montré qu'on peut en effet ordonner en série les globules suivant leur résistance, les sérums suivant leur activité. La question se posait donc de savoir si quelque chose dans la composition des globules ou des sérums varie parallèlement à ces propriétés. L'expérience montre que l'ordre de résistance des globules est précisément celui de leur teneur en acides gras fixes, en phosphatides et que, d'autre part, l'ordre de puissance croissante des sérums est précisément parallèle à l'ordre des teneurs en cholestérine. Il y a donc une variation de composition qui correspond aux propriétés et cela oriente les recherches dans une voie vraisemblablement fructueuse.

XI. — CONTRIBUTION A LA BIOCHIMIE DES MICROORGANISMES. — CULTURE SUR UN MILIEU CHIMIQUEMENT DÉFINI. — EXTENSION AU CAS DES MICROBES DE LA NOTION D'ACIDES AMINÉS INDISPENSABLES.

Un grand nombre de problèmes suscités par nos recherches pourraient être utilement abordés par l'étude de la nutrition des microorganismes, mais il faudrait cultiver ceux-ci dans des milieux de composition chimique connue. Or les « bouillons » que les bactériologistes considèrent comme les plus propres à la culture ont été établis peu à peu empiriquement en partant de matières usuelles ; leur composition n'est pas définie et les raisons de leur valeur sont inconnues. Il faut d'abord éclairer ces points. Abordant avec Armand-Delille, Schaeffer et Terroine, le cas de la culture du bacille tuberculeux, nous avons cherché à quoi étaient dues les qualités du bouillon optimum empirique. En outre de sels et d'hydrates de carbone connus, ce bouillon contient des éléments azotés dont il s'agissait de déterminer la nature. Des analyses systématiques nous ont montré qu'on y rencontrait des acides monoaminés, des acides diaminés et des substances dites extractives qu'on pouvait caractériser. Dès lors il nous a été possible de constituer synthétiquement des milieux contenant, en outre des sels, du glucose et de la glycérine, l'un ou plusieurs de ces éléments azotés ; et nous avons finalement obtenu des bouillons ayant toutes les qualités du bouillon empirique mais parfaitement définis chimiquement. Par des comparaisons systématiques portant sur un très grand nombre de mélanges nous avons d'abord recherché quels étaient les éléments azotés indispensables pour que le bouillon ait toute sa valeur nutritive, Nous avons reconnu que l'azote devait y être représenté sous deux formes : celle d'un acide monoaminé comme le glycocolle et celle d'un acide diaminé comme l'arginine. En dehors de son résultat pratique, notre recherche aboutit donc à la généralisation au cas des microbes de la notion d' « acides aminés indispensables », notion qui n'avait été établie que pour les êtres vivants supérieurs.

Les recherches que nous venons d'exposer ont été poursuivies avec continuité dans la même direction. D'autres questions se sont présentées à nous que nous avons abordées et qui ont fait l'objet de travaux divers. Nous allons en résumer quelques-unes.

XII. — RECHERCHES SUR LE MODE D'ACTION DE LA PIQURE DIABÉTIQUE.

Claude Bernard avait montré que la piqûre du plancher du quatrième ventricule provoque une hyperglycémie suivie d'une glycosurie marquée, que

l'excitation des nerfs splanchniques a les mêmes effets que cette piqûre, qu'après section des splanchniques celle-ci est sans action. D'autre part, Blum (1902) a montré que l'injection intraveineuse d'adrénaline est suivie d'hyperglycémie se traduisant par de la glycosurie. L'adrénaline étant un produit des glandes surrénales et ces glandes étant innervées par le splanchnique, je me suis demandé s'il n'y avait pas connexion entre l'action des surrénales et celle de la piqûre diabétique. .

Des expériences sur des lapins m'ont montré que lorsque les surrénales ont été extirpées, la piqûre du quatrième ventricule ne provoque plus de glycosurie..

On est alors conduit à faire l'hypothèse suivante : le mécanisme par lequel agit la piqûre ne serait pas, comme le croyait Claude Bernard, le résultat d'une action nerveuse directe sur le foie, mais une action humorale due à la décharge d'adrénaline que provoque l'excitation des splanchniques.

Cette hypothèse a donné lieu à un très grand nombre de travaux et la question est encore l'objet de nombreuses discussions.

XIII. — Expériences sur l'hyperglobulie des altitudes.

Paul Bert, Viault avaient été amenés à penser que, pour s'adapter à la respiration dans l'air raréfié des hauts lieux, l'organisme a recours à une multiplication immédiate du nombre de ses globules rouges (hyperglobulie des altitudes). Cette notion s'est trouvée remise en uestion à qla suite d'expériences faites à la demande de l'Aéro-Club par les membres de la Société de Biologie. Des expériences exécutées soit avec Armand Delille, lors d'ascensions en haute montagne, soit avec Lapicque, en ballon, nous ont permis de constater que l'augmentation du nombre des globules est, dans un grand nombre de cas, purement apparente; on l'observe seulement dans les capillaires périphériques. Elle paraît être la conséquence de modifications vaso-motrices dues, pour une part, à l'influence du froid.

XIV. — Recherches sur les gaz de combat.

Lorsque, en 1915, les Allemands, lançant sur nos lignes un nuage de chlore destiné à tuer sur son passage tout être vivant, inaugurèrent la « guerre chimique », la surprise chez nous fut complète. Il fallait tout improviser, et la défense et la riposte. Dans l'ensemble du problème brutalement posé à nos chercheurs, la part du physiologiste était double : reconnaître très rapidement

mais très complètement tous les effets physiologiques des substances utilisées par l'ennemi dès leur emploi sur le champ de bataille; examiner la valeur offensive des corps créés par les chimistes français, ou fabriqués dans nos usines en vue de l'attaque. Travail différent dans les deux cas : dans le premier, une analyse physiologique serrée entreprise en mettant au besoin en jeu toutes les techniques biologiques d'exploration des divers appareils de l'économie; dans le second, une création de méthodes de mesure permettant d'evaluer les diverses propriétés nocives des différents composés toxiques: mais dans les deux cas, travail intensif, exécuté presque à l'échelle industrielle. Il fallait, pour le réaliser, créer d'abord une organisation. Nous l'avons fait, sur un double principe : d'une part, division du travail par spécialité, avec coopération intime des divers spécialistes; d'autre part, formation d'aides-techniciens pour tout le travail à répéter en série. C'est ainsi que le service que nous dirigions a comporté des laboratoires de physique biologique, de chimie biologique, de physiologie, d'histologie (avec sous-section d'hématologie et d'ophtalmologie), où chaque chercheur était assisté d'aides, avec un secrétariat général pour assurer la liaison. Le travail était discuté et réparti au cours de réunions quotidiennes. La coopération ainsi établie s'est montrée efficace. Dans les cas urgents, en cinq jours, on a pu fournir une étude systématique des effets de composés nouveaux; d'autre part, le rendement a été considérable. En trois ans, il est sorti du service plus de 750 mémoires et études. On y a expérimenté sur plus de 16 000 animaux. Au surplus, le rôle du Service de physiologie n'a pas été méconnu, et les publications sur la guerre chimique faites par les Autorités militaires en ont souligné l'importance.

La plus grande part des résultats de ces études est inédite. Cependant les effets pharmacologiques de certaines séries chimiques ont déjà fait l'objet de publications.

Nous avons aussi fait connaître des recherches, exécutées avec Morel, sur la lipase pulmonaire, sur la composition des liquides d'œdème; et d'autres poursuivies avec Fauré-Fremiet et Guieysse sur l'histophysiologie du poumon. De plus, un certain nombre de faits physiologiques nouveaux ont été signalés; par exemple, une étude des réflexes des voies respiratoires, faite en collaboration avec Magne et Plantefol, a mis en évidence un réflexe nouveau et un antagonisme jusqu'ici inconnu entre certains réflexes; elle a permis de montrer qu'il est possible d'exercer, par voie nerveuse, une action inhibitrice des oxydations générales.

Ces faits posent des problèmes importants dont il y aura intérêt à poursuivre la solution.

LISTE CHRONOLOGIQUE DES TRAVAUX SCIENTIFIQUES

1900

1. — **Variations de la tension osmotique du sang chez les animaux privés de liquides.** (*B. B.*[1], 17 février, p. 153.)

2. — **Régulation de la tension osmotique du sang par les actions vaso-motrices.** (*B. B.*, 28 avril, p. 388.)

3. — **Centres régulateurs de la pression osmotique du sang.** (*B. B.*, 2 juin, p. 521.)

4. — **Note sur la soif d'origine gastrique.** (*B. B.*, 2 juin, p. 523.)

5. — **Essai sur la soif, ses causes et son mécanisme.** (1 vol. Paris, Alcan.)

1901

6. — **Rôle de la viscosité dans les phénomènes osmotiques et dans les échanges organiques.** (*B. B.*, 21 décembre, p. 1138.)

7. — **Présentation d'un viscosimètre.** (*B. B.*, 21 décembre, p. 1139.)

1902

8. — **Coefficients de viscosité du sérum et du plasma sanguins normaux.** (*B. B.*, 22 mars, p. 365.)

9. — **Études viscosimétriques sur la coagulation des albuminoïdes du plasma sanguin par la chaleur.** (*B. B.*, 22 mars, p. 367.)

10. — **Variations de viscosité et variations de quantité des substances albuminoïdes du plasma sanguin.** (*B. B.*, 21 juin, p. 767.)

11. — **Épilepsie expérimentale par augmentation de la concentration moléculaire du sang** (en coll. avec S. Lalou). (*B. B.*, 19 avril, p. 452.)

12. — **État physique du sang et des centres nerveux sous l'influence des agents convulsivants** (en coll. avec S. Lalou). (*B. B.*, 21 juin, p. 765.)

13. — **Variations des albuminoïdes du plasma sanguin au cours du lavage du sang. — I. Variations quantitatives** (en coll. avec Victor Henri). (*B. B.*, 28 juin, p. 824.)

14. — **Variations des albuminoïdes du plasma sanguin au cours du lavage du sang. — II. Variations qualitatives** (en coll. avec Victor Henri). (*B. B.*, 28 juin, p. 827.)

15. — **Expériences sur l'hyperglobulie des altitudes** (en coll. avec P. Armand-Delille). (*B. B.*, 25 octobre, p. 1187.)

1. *B. B., Comptes rendus des séances de la Société de Biologie ; C. R., Comptes rendus de l'Académie des Sciences.*

1903

16. — **Hyperglobulie périphérique sous l'influence du froid** (en coll. avec L. Lapicque). (*B. B.*, 27 juin, p. 823.)

17. — **Nouvelles expériences snr l'hyperglobulie des altitudes** (en coll. avec P. Armand-Delille). (*B. B.*, 31 octobre, p. 1253.)

18. — **Action des radiations du radium sur l'hémoglobine. — Transformation en méthémoglobine** (en coll. avec Victor Henri). (*B. B.*, 21 novembre, p. 1412.)

19. — **Action des radiations du radium sur les globules rouges. — Modification des échanges osmotiques** (en coll. avec Victor Henri). (*B. B.*, 21 novembre, p. 1415.)

20. — **Note sur les conditions mécaniques circulatoires de la sécrétion urinaire** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 28 novembre, p. 1514.)

21. — **Deuxième note sur les conditions mécaniques circulatoires de la sécrétion urinaire** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 28 novembre, p. 1515.)

22. — **Étude générale des propriétés des solutions colloïdales. — Introduction** (en coll. avec Henri, Lalou et Stodel). (*B. B.*, 12 décembre, p. 1613.)

23. — **Snr la précipitation des colloïdes simples par les électrolytes** (en coll. avec Henri, Lalou et Stodel). (*B. B.*, 19 décembre, p. 1666.)

24. — **Sur les phénomènes qui précèdent la précipitation des colloïdes par les électrolytes et sur les moyens de les mettre en évidence** (en coll. avec Henri, Lalou et Stodel). (*B. B.*, 19 décembre, p. 1668.)

25. — **Étude des complexes de deux colloïdes. — I. Étude des complexes de deux colloïdes de même signe électrique** (en coll. avec Henri, Lalou et Stodel). (*B. B.*, 19 décembre, p. 1669.)

26. — **Étude des complexes de deux colloïdes. — II. Étude des complexes de deux colloïdes de signes électriques opposés** (en coll. avec Henri, Lalou et Stodel). (*B. B.*, 19 décembre, p. 1671.)

1904

27. — **Action des radiations du radium sur les colloïdes, les ferments et les globules rouges** (en coll. avec V. Henri). (*C. R.*, p. 521.)

28. — **Action des radiations du radium sur les colloïdes** (en coll. avec V. Henri). (*B. B.*, 13 février, p. 229.)

29. — **Action des radiations du radium sur les ferments solubles** (en coll. avec V. Henri). (*B. B.*, 13 février, p. 230.)

30. — **Étude des complexes de deux colloïdes. — Réversibilité de la précipitation des colloïdes positifs par les colloïdes négatifs. — Irréversibilité de la précipitation des colloïdes stables par les colloïdes instables.** (*B. B.*, 28 mai, p. 865.)

31. — **Sur l'action du sang rendu hépatotoxique par injection intra-péritonéale de nucléoprotéides du foie** (en coll. avec Bierry). (*B. B.*, 18 juin, p. 1017.)

32. — **Étude sur les solutions colloïdales. — Application de la règle des phases à l'étude de la précipitation des colloïdee** (en coll. avec V. Henri). (*C. R.*, p. 757.)

33. — **Expériences sur l'hyperglobulie des altitudes** (en coll. avec F. Armand-Delille). (*Journ. Phys. et Path.*, mai, p. 464-475, Paris, Masson.)

34. — **Sur l'action du sang rendu hépatotoxique par injectione intra-péritonéales de nucléoprotéides dn foie** (en coll. avec H. Bierry). (*C. R.*, p. 1639.)

35. — **Numération des globules sur des lapins ayant un sympathique coupé, au cours d'ascension en ballon.** (*B. B.*, 23 juillet, p. 191.)

36. — **Métabolisme du lactose chez les chiens ayant reçu des injections de sang hépatotoxique** (en coll. avec Bierry). (*B. B.*, 23 juillet, p. 179.)

37. — **Métabolisme du saccharose chez les chiens ayant reçu des injections de sang hépatotoxique** (en coll. avec Bierry). (*B. B.*, 23 juillet, p. 180.)

38. — **Précipitation des colloïdes positifs par les radiations β du radium** (en coll. avec V. Henri). (*B. B.*, 2 juillet, p. 33.)

39. — **Étude sur le mécanisme de l'action diurétique des sucres** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 23 juillet, p. 219.)

40.— **Étude sur le mécanisme de l'action diurétique des sucres. — Deuxième note** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 23 juillet, p. 223.)

41. — **Concentration moléculaire du sang et de l'urine au cours de la polyurie produite par injections de sucres** (en coll. avec Lamy). (*B. B*, 23 juillet, p. 225.)

42. — **Effets diurétiques comparés des différents sucres** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 23 juillet, p. 227.)

43. — **A propos de l'action diurétique des sucres** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 29 octobre, p. 323.)

44. — **Sur la composition des granules colloïdaux** (en coll. avec V. Henri). (*C. R.*, 3 décembre, p. 974.)

45. — **Sur la précipitation des colloïdes** (en coll. avec Victor Henri). (*C. R. de la Société de Physique*, 15 décembre.)

46. — **Études sur la diurèse. — Étude sur le mécanisme de l'action diurétique des sucres. — I. Conditions mécaniques circulatoires de diurèse** (en coll. avec H. Lamy). (*Journ. Phys. et Path.*, novembre, p. 1066-1079, 6 planches.)

47. — **Les colloïdes. — État actuel de nos connaissances** (en coll. avec V. Henri). (*Revue générale des sciences*, novembre-décembre, 80 colonnes.)

1905

48. — **Sur les conditions physiques de la polyurie consécutive à l'injection intraveineuse de sucres sur le pouvoir sécréteur du rein** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 18 février, p. 294.)

49. — **Observations sur l'urine de l'homme sain soumis à une alimentation pauvre en Na Cl. — Variations du rapport $\frac{\Delta}{\text{Na Cl}}$** (*B. B.*, 25 février, p. 377.)

50. — **Variations de concentration de quelques éléments de l'urine à la suite d'injections intraveineuses de divers cristalloïdes** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 8 avril, p. 663.)

51. — **Sur le pouvoir sécréteur du rein** (en coll. avec Lamy). (*C. R.*, 6 mars, p. 683.)

52. — **Examens histologiques des reins après injections dans le sang de métaux colloïdaux** (en coll. avec G. Stodel). (*B. B.*, 15 avril, p. 713.)

53. — **Études sur la diurèse. — II. Sur les conditions physiques de la polyurie provoquée par l'injection intraveineuse de divers cristalloïdes** (en coll. avec Lamy). (*Journ. Phys. et Path.*, juillet, p. 679-689.)

54. — **Expériences sur la sélection rénale. — Sélection négative du chlorure de sodium. — Sélection positive du glucose** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 22 juillet, p. 192.)

1906

55.— **Sur le débit urinaire** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 13 janvier, p. 59.)

56. — **Sur le débit urinaire** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 13 janvier, p. 61.)

57. — **Action du suc gastrique artificiel sur l'ovalbumine. — Précipitation. — Redissolution en présence des électrolytes.** (*B. B.*, 17 mars, p. 542.)

58. — **Sur les points où se fixe temporairement l'eau dans l'organisme.** (*B. B.*, 24 mars, p. 588.)

59. — **Modifications histologiques des tubes contournés du rein au cours des polyuries provoquées** (en coll. avec Lamy et Rathery). (*B. B.*, 31 mars, p. 601.)

60. — **Études sur la diurèse. — III. Sur les conditions des variations du débit urinaire (sécrétion de l'eau par le rein)** (en coll. avec Lamy). (*Journ. Phys. et Path.*, mars, p. 258-266.)

61. — **Modifications histologiques du rein au cours des éliminations d'eau et de cristalloïdes** (en coll. avec Lamy et Rathery). (*B. B.*, 19 mai, p. 876.)

62. — **Etude sur les éliminations provoquées chez le poulpe** (Octopus vulgaris). (*B. B.*, 2 juin, p. 959.)

63. — **Etude histologique du glomérule du rein au cours des polyuries provoquées** (en coll. avec Lamy et Rathery). (*B. B.*, 26 mai, p. 931.)

64. — **Une nouvelle hypothèse sur l'anatomo-physiologie du rein** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 26 mai, p. 932.)

65. — **Sur le mode d'action de la piqûre diabétique. — Rôle des capsules surrénales.** (*B. B.*, 30 juin, p. 1123.)

66. — **Histologie du rein du poulpe** (Octopus vulgaris) **à l'état normal et au cours des éliminations provoquées** (en coll. avec Rathery). (*B. B.*, 30 juin, p. 1121.)

67. — **Sur les modifications de la sécrétion urinaire. — Action des sels de calcium** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 21 juillet, p. 102.)

68. — **Etudes sur la diurèse. — IV. Modifications histologiques du rein au cours de l'élimination de l'eau et des cristalloïdes** (en coll. avec Lamy et F. Rathery). (*Journ. Phys. et Path.*, juillet, p. 624-634, 2 planches.)

69. — **Etude sur la diurèse. — V. Les théories de la sécrétion rénale. Une nouvelle hypothèse sur l'anatomo-physiologie du rein** (en coll. avec Lamy). (*Jour. de Phys. et Path.*, juillet, p. 660-672.)

70. — **Sur les complexes de l'ovalbumine pure.** (*C. R.*, 8 octobre.)

71. — **Recherches sur les complexes colloïdaux d'albuminoïdes. — I. Les complexes mucine-albumine et mucine-pepsine-albumine.** (*B. B.*, 3 novembre, p. 353.)

72. — **II. Les complexes caséine-albumine, nucléo-albumine-albumine et alcali-albumine-albumine.** (*B. B.*, 10 novembre, p. 397.)

73. — **III. Les complexes de l'acidalbumine et les nucléoprotéides. — Application de la règle des signes aux solutions colloïdales précipitables par dialyse.** (*B. B.*, 17 novembre p. 437.)

74. — **Conditions générales de persistance, de précipitation et de redissolution des solutions colloïdales** (en coll. avec V. Henri). (*B. B.*, 17 novembre, p. 435.)

75. — **Sur les complexes colloïdaux d'albuminoïdes.** (*B. B.*, 1er décembre, p. 534.)

76. — **IV. Les complexes nucléine-albumine et acide nucléinique-albumine. Les nucléoprotéides et les nucléines sont des complexes colloïdaux.** (*B. B.*, 1er décembre, p. 537.)

1907

77. — **V. Influence des électrolytes sur la précipitabilité et la solubilité des combinaisons d'absorption et des complexes colloïdaux d'albuminoïdes.** (*B. B.*, 12 janvier, p. 46.)

78. — **VI. Action des acides et des alcalis sur l'albumine.** (*B. B.*, 23 mars, p. 521.)

79. — **Sur les propriétés des précipités d'albumine par l'alcool. — Redissolution dans l'alcool en présence d'électrolytes** (en coll. avec E. Terroine). (*B. B.*, 23 février, p. 317.)

80. — **Recherches sur les complexes colloïdaux d'albuminoïdes et de lipoïdes. — I. Les lécithalbumines sont des complexes colloïdaux** (en coll. avec Terroine). (*B. B.*, 9 mars, p. 398.)

81. — **II. Sur les jécorines naturelles et artificielles** (en coll. avec Terroine). (*B. B.*, 4 mai, p. 773.)

82. — **Crises épileptiques à la suite de la ligature temporaire des veines rénales** (en coll. avec Chirié). (*B. B.*, 13 avril, p. 598.)

83. — **Etudes sur le corps fungiforme du poulpe** (Octopus vulgaris). (*Journ. de l'Anatomie et de la Physiologie*, Paris, Alcan, janvier, p. 25 48.)

84. — **Modifications histologiques du rein normal au cours des diverses diurèses provoquées. — I. Etudes sur le rat : modifications vacuolaires** (en coll. avec F. Rathery). (*B. B.*, 27 avril, p. 739.)

85. — **II. Etudes sur le rat : modifications de structure protoplasmique** (en coll. avec F. Rathery). (*B. B.*, 4 mai, p. 776.)

86. — **Sur le pouvoir diurétique comparé des sucres** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 4 mai, p. 804-808.)

87. — **Influence du rythme artériel sur la sécrétion urinaire. — Dispositif pour circulations artificielles rythmées** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 6 juillet, p. 44.)

88. — **Comparaison des circulations artificielles continues et rythmées à travers le rein** (en coll. avec Lamy). (*B. B.*, 13 juillet, p. 106.)

89. — **Etudes ultramicroscopiques sur quelques colloïdes organiques. Deux états optiques des colloïdes organiques** (*B. B.*, 6 juillet, p. 42)

90. — **Etudes ultramicroscopiques sur les colloïdes. — II. Précipitation par les électrolytes. — Coagulation par la chaleur.** (*B. B.*, 20 juillet, p. 184.)

91. — **Etudes ultramicroscopiques sur le plasma sanguin.** (*B. B.*, 30 novembre, p. 553.)

92. — **Sur la notion de « globuline » et la classification des albuminoïdes d'après leur état colloïdal.** (*B. B.*, 7 décembre, p. 621.)

93. — **La coagulation du plasma sanguin. — Etude ultramicroscopique.** (*B. B.*, 14 décembre, p. 658.)

94. — **Modifications histologiques du rein normal au cours des diverses diurèses provoquées. — III. Etudes sur le lapin** (en coll. avec F. Rathery). (*B. B.*, 13 juillet, p. 108.)

95. — **Influence de la réaction du milieu sur la grandeur des granules colloïdaux** (en coll. avec Schaeffer et Terroine). (*C. R.*, 25 novembre.)

96. — **L'état colloïdal** (en coll. avec V. Henri). (In *Traité de Physique de Chwolson*, trad. française, Paris, Hermann.)

1908

97. — **Sur un cas d'albuminurie dite « acéto-soluble » chez une malade en état de rétention chlorurée** (en coll. avec F. Rathery). (*B. B.*, 18 janvier, p. 63.)

98. — **Ablation des surrénales et diabète pancréatique.** (*B. B.*, 8 février, p. 219)

99. — **Recherches complémentaires sur les lésions du foie et du rein après ligature temporaire des veines rénales** (en coll. avec Chirié). (*B. B.*, p. 319.)

100. — **Images par contrastes et photographies de préparation microscopiques fraîches. Application à l'étude du tissu rénal** (en coll. avec Mlle Chevroton et F. Rathery). (*B. B.*, 1er février, p. 182.)

101. — **Sur la structure des gels. — Application à l'étude de la constitution du protoplasma animal et des liquides de l'organisme** (en coll. avec G. Schaeffer). (*B. B.*, 11 avril, p. 681.)

102. — **Sur la structure ultramicroscopique des empois d'amidon et de leurs constituants** (en coll. avec Mme Gatin-Gruzewska et G. Schaeffer). (*B. B.*, 4 avril, p. 599.)

103. — **Dispositif pour filtration à travers lee membranes** (en coll. avec Schaeffer et Terroine). (*B. B.*, 22 février, p. 318.)

104. — **Recherches eur lee eavons considérée comme colloïdes** (en coll. avec Schaeffer et Terroine). (*B. B.*, 29 février, p. 356.)

105. — **Recherches physico-chimiques sur les savons considérés comme colloïdes** (en coll. avec Schaeffer et Terroine). (*C. R.*, 2 mars.)

106. — **Sur le transport électrique des colloïdes inorganiques** (en coll. avec E. Salles). (*C. R.*, 13 avril.)

107. — **Sur la réalieation in vivo et in vitro de précipitines pour l'ovalhumine à partir d'antigènes chimiquement définis** (en coll. avec G. Schaeffer). (*C. R.*, 3 août.)

108. — **Modificatione hietologiques du rein au cours des polyuries répétées** (en coll. avec Rathery). (*B. B.*, 18 juillet, p. 134.)

109. — **Lésione du foie et du rein produitee par des injections d'acides gras, de savons d'éthers** (en coll. avec F. Rathery et G. Schaeffer). (*B. B.*, 25 juillet, p. 210.)

110. — **Rapport snr nne mission scientifique à Iéna** (en coll. avec Mlle Chevroton et V. Henri). (Nouvelles archives des Missions scientifiques, XVII.)

1909

111. — **Recherches sur l'histophyeiologie de la eécrétion nrinaire chez les Mammifères** (en coll. avec F. Rathery). (*Archives d'Anatomie microscopique, XI, 1* ; p. 134-166.)

112. — **Histophysiologie du rein de Tupinamhis teguixln** (en coll. avec F. Rathery). (*Journ. de l'Anatomie et de la Physiologie*, n° 4, p. 321-338.)

113. — **Sur la constitution et le rôle des mitochondriee** (en coll. avec Fauré-Fremiet et G. Schaeffer). (*B. B.*, 3 juin, p. 921.)

114. — **Sur la coloration du glycogène.** (*B. B.*, 30 janvier, p. 183.)

115. — **Sur les réactions chimiquee dee mitochondries** (en coll. avec Fauré-Fremiet et G. Schaeffer). (*B. B.*, 18 décembre, p. 769.)

116. — **Lésione expérimentales des cellules dn foie** (en coll. avec F. Rathery et G. Schaeffer). (*B. B.*, 11 décembre, p. 211.)

117. — **Sur les lésione expérimentalee des cellules du foie.** (*B. B.*, p. 779.)

118. — **Contrihntion à l'étude dee acidalhumines, particulièrement des acidalhumines d'acides gras** (en coll. avec G. Schaeffer). (*Archivio di Fisiologia, VII*, p. 457-489.)

1910

119. — **Snr les réactions microchimiquee des corps gras et la réaction de Gram** (en coll. avec M. Guerbet et G. Schaeffer). (*B. B.*, 26 février, p. 353.)

120. — **Snr les propriétés des granulatione ou mitochondries de la cellule hépatique normale** (en coll. avec Rathery et Schaeffer). (*B. B.*, p. 407.)

121. — **Sur l'aspect et lee variations des granulatione ou mitochondries de la cellule hépatiqne** (en coll. avec Rathery et Schaeffer). (*B. B.*, p. 427.)

122. — **Réaction dee celluiee hépatiques à diverses suhstances organiques** (en coll. avec F. Rathery et G. Schaeffer). (*B. B.*, p. 530.)

123. — **Appareil à contention pour lapine** (en coll. avec Schaeffer). (*B. B.*, p. 948.)

124. — **Microchimie des éléments mitochondrieux du myocarde** (en coll. avec Fauré-Fremiet et G. Schaeffer). (*C. R., Association des Anatomistes*, 2° Réunion, Bruxelles, p. 70-75.)

125. — **Sur la microchimie des corps gras. Application à l'étude des mitochondries** (en coll. avec Fauré-Fremiet et Schaeffer). (*Archives d'Anatomie microscopique*, p. 21-100, Paris, Masson.)

126. — **Sur la microchimie des corps gras** (en coll. avec Fauré-Fremiet et G. Schaeffer). (*Anatomischer Anzeiger*, XXVI, p. 596.)

127. — **Lésions expérimentales de la cellule hépatique** (en coll. avec F. Rathery et G. Schaeffer). (*Archives de Médecine expérimentale*, n° 2, mars. Paris, Masson.)

1911

128. — **Recherches sur les hémolysines. — I. Sur la spécificité des hémolysines naturelles.**

129. — **II. Sur la spécificité des hémolysines acquises** (en coll. avec G. Schaeffer). (*Journal de Phys. et Path. générale*. juillet, n° 4, pp. 528-541 et 553-564.)

130. — **Lésions du foie et du rein à la suite d'injections des acides butyriques et oxybutyriques** α **et** β (en coll. avec F. Rathery et G. Schaeffer). (*B. B.*, p. 529.)

1912

131. — **Culture du bacille de Koch en milieu chimiquement défini** (en coll. avec P. Armand-Delille, Schaeffer et Terroine). (*C. R.*, p. 154, 19 février.)

132. — **Dosage de la cholestérine par les méthodes de Kumagawa-Suto et Windaus combinées** (en coll. avec Schaeffer). (*BB.*, p. 362.)

133. — **Sur les mitochondries de la cellule hépatique** (en coll. avec F. Rathery et G. Schaeffer), (*B. B.*, p. 217.)

134. — **Sur le protoplasma de la cellule hépatique** (en coll. avec F. Rathery et G. Schaeffer). (*B. B.*, p. 307.)

135. — **Contribution à la microchimie des surrénales — I. Recherches sur les surrénales de cheval** (en coll. avec P. Mulon et G. Schaeffer). (*B. B.*, 27 juillet, p. 313.)

136. — **Microchimie des surrénales. Surrénales de mouton.** (*B. B.*, 27 juillet, p. 315.)

137. — **Composition chimique du sang et hémolyse** (en coll. avec G. Schaeffer). (*C. R.*, CLV, 14 octobre, p. 728.)

1913

138. — **Valeur de quelques méthodes histologiques pour la fixation des corps gras** (en coll. avec G. Schaeffer). (*B. B.*, LXXIV, p. 241, 1er février.)

139. — **La composition des tissus en acides gras non volatils et en cholestérine et l'existence possible d'une constance lipocytique** (en coll. avec G. Schaeffer). (*C. R.*, CLVII, p. 487, 10 février.)

140. — **Culture du bacille de Koch en milieu chimiquement défini** (en coll. avec Terroine et G. Schaeffer). (*B. B.*, LXXIV, 8 février, p. 272.)

141. — **L'eau d'imbibition des tissus** (*B. B.*, LXXIV, 12 avril, p. 750.)

142. — **Coefficient lipocytique et imbibition des cellules vivantes par l'eau** (en coll. avec G. Schaeffer). (*C. R.*, CLVI, p. 1253, 21 avril.)

143. — **Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. Existence possible d'une constance lipocytique. 1er mémoire. Introduction et technique** (en coll. avec G. Schaeffer). (*Journal Phys. et Path.*, XV, 15 mai, pp. 510-524.)

144. — **2e mémoire. Résultats expérimentaux** (en coll. avec G. Schaeffer). (*Ibid.*, XV, 15 mai, pp. 534-548.)

145. — **Une hypothèse de travail sur le rôle physiologique des mitochondries** (en coll. avec G. Schaeffer). (*B. B.*, LXXIV, 28 juin, p. 1384.)

146. — **Recherches sur la constance lipocytique. Teneur des tissus en lipoïdes phosphorée** (en coll. avec G. Schaeffer). (*C. R.*, CLVII, p. 156, 15 juillet).

147. — **Recherhes sur la teneur des tissus en lipoïdes. 3e mémoire : tenenr dee tissus en phosphore lié anx lipoïdes** (en coll. avec G. Schaeffer). (*Journal Phys. et Path.*, XV, pp. 773-788, 4 juillet.)

148. — **Contribution de la biochimie des microorganismes. — I. Le bacille tuberculeux; culture en milieu chimiquement défini** (en coll. avec Armand-Delille, Schaeffer et Terroine). (*Journal Phys. et Path.*, XV, pp. 795-811 ; juillet.)

149-150. — **Action des fixateurs chromo-osmiquee sur les lipoïdes des tissus. — I. Action hydrolysante, action oxydante. — II. Action insolubilisante ; action enr la colorabilité** (en coll. avec G. Schaeffer). (*B. B.*, LXXV, 19 et 26 juillet, 136 et 214.)

151. — **Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. — 4e mémoire. Teneur en lipoïdes des glohules et du sérum sanguin** (en coll. avec G. Schaeffer). (*Journal Phys. et Path.*, XV, 5 septembre, pp. 984-998.)

152. — **Sur les efiets dee ligatures temporaires des veines rénales** (en coll. avec A. Frouin et F. Rathery). (*B. B.*, LXXV, 6 décembre, p. 528.)

153. — **Actions de quelques fixateurs des cellules nerveuses sur la composition chimique du tiesu** (en coll. avec J. Mawas et G. Schaeffer). (*B. B.*, LXXV, 13 décembre, p. 560.)

1914

154. — **Recherches sur les constantes cellulaires. Teneur des cellules en eau. — 1er mémoire, discussion théorique. L'eau constante cellulaire** (en coll. avec G. Schaeffer). (*Journal Phys. et Path.*, XVI, 1er janvier, p. 1-16.)

155. — **2e mémoire. Rapport entre la teneur des cellulee en lipoïdes ot leur teneur en eau** (en coll. avec G. Schaeffer). (*Ibid.*, XVI, 1, janvier, p. 23-38.)

156. — **Recherches sur les variations des équilibres cellulaires. Variations de la teneur des tissus en lipoïdes et en eau au cours de l'inanition ahsolue** (en coll. avec G. Schaeffer). (*Ibid.*, XVI, 2 mars, p. 203-211.)

157. — **La formation dn « foie gras » au conrs du gavage de l'oie** (en coll. avec F. Rathery, G. Schaeffer et E. F. Terroine). (*B. B.*, LXXVI, 21 mars, p. 49.)

158-159. — **Variations de la tsneur en lipoïdes et activité physiologique des tissus. Cas de la régulation thermique. — I. Hihernants, poïkilothermes et homéothermes. — II. Réaction des homéothermes au refroidissement et à l'échauflement** (en coll. avec G. Schaeffer). (*Journal Phys. et Path.*, XVI, 3 mai, pp. 323-336 et 337-359.)

160-161. — **Lee granulations ou mitochondries de la cellule hépatique** (en coll. avec F. Rathery et G. Schaeffer). (*Ibid* , XVI, 4 juillet, pp. 581-596 et 607-622, 2 planches.)

162. — **Constance de la concentration des organismes entiers en lipoïdes phosphorés. Concentration en lipoïdes au cours de la croissance. Application à la hiométrique** (en coll. avec G. Schaeffer). (*C. R.*, CLIX, p. 102, 6 juillet.)

1919

63. — **Extension au cas des microhes de la notion d'acides aminée indispensahles. Rôle de l'arginine et de l'histidine dans la culture du hacille de Koch sur milieu chimiquement défini** (en coll. avec G. Schaeffer). (*B. B.*, LXXXII, p. 113, janvier.)

164. — **La lipase du tissu pulmonaire** (en coll. avec P. Morel). (*Bulletin de la Soc. de Chimie biologique*, I, n° 4, p. 189.)

165. — **L'état fonctionnel du rein comparé à son aspect histologique et à sa composition chimique** (en coll. avec Ambard, F. Rathery et G. Schaeffer). (*B. B.*, LXXXII, p. 1336, 20 décembre.)

1920

166. — **Les modalités de l'action du chlore sur l'oxyhémoglobine** (en coll. avec F. Vlès). (*Bulletin de la Soc. de Chimie biologique*, II, n° 2, p. 96.)

167. — **Mode d'action des gaz de combat utilisés pendant la guerre.** (*C. R.*, CLXX, 3 mai, p. 1073.)

168. — **Lésions pulmonaires déterminées par les gaz suffocants** (en coll. avec Fauré-Fremiet et A. Guieysse). (*C. R.*, CLXX, 25 mai, p. 1289.)

169. — **Actions réflexes produites par l'irritation des premières voies respiratoires** (en coll. avec H. Magne et L. Plantefol). (*C. R.*, CLXX, 31 mai, p. 1347.)

170. — **Mécanisme de la mort dans le cas d'œdème pulmonaire aigu causé par l'inspiration de vapeurs ou de gaz nocifs** (en coll. avec H. Magne et L. Plantefol). (*C. R.*, CLXX, 7 juin, p. 1421.)

171. — **Lésions cutanées déterminées par certains composés vésicants** (en coll. avec E. Fauré-Fremiet, A. Guieysse et H. Magne). (*C. R.*, CLXX, 14 juin, p. 1476.)

172. — **Lésions pulmonaires déterminées par les corps vésicants** (en coll. avec E. Fauré-Fremiet, A. Guieysse et L. Plantefol). (*C. R.*, CLXX, 21 juin, p. 1532.)

173. — **Sur l'action toxique du sulfure d'éthyle dichloré** (en coll. avec H. Magne et L. Plantefol). (*C. R.*, CLXX, 28 juin, p. 1625.)

174. — **Action physiologique de l'éther diméthylique dichloré symétrique** (en coll. avec L. Plantefol et A. Tournay). (*C. R.*, CLXXI, 5 juillet, p. 60.)

175. — **Sur l'intoxication par les méthanes nitrohalogénés** (en coll. avec L. Plantefol et F. Vlès). (*C. B.*, CLXXI, 27 décembre, p. 1396.)

1921

176. — **Sur les propriétés pharmacodynamiques de quelques éthers-sulfures halogénés (sulfures d'éthyle dichloré et dibromé, sulfure de propyle dichloré)** (en coll. avec H. Magne et L. Plantefol). (*Bulletin de la Soc. de Chimie biologique*, III, n° 1, p. 9. Paris, Dunod.)

177. — **Note sur la composition du liquide apparaissant dans le poumon au cours de l'œdème pulmonaire aigu expérimental** (en coll. avec P. Morel). (*Bulletin de la Société de Chimie biologique*, III, n° 9, 520.)

EXPOSÉ ANALYTIQUE DES TRAVAUX[1]

I

RECHERCHES SUR LA PRESSION OSMOTIQUE DES LIQUIDES ORGANIQUES ET LA CIRCULATION DE L'EAU DANS L'ORGANISME CONSEQUENCES PHYSIOLOGIQUES DES VARIATIONS DE PRESSION OSMOTIQUE DU SANG

I. — **Variation de la concentration moléculaire du sang chez les animaux** (1, 3)

1° ANIMAUX PRIVÉS DE LIQUIDES. — Les chiens soumis à une alimentation sèche et totalement privés de boisson baissent progressivement de poids : par exemple, en sept jours, de 21 kilogrammes à 13 kg. 100 ; de 12 kilogrammes à 8 kg. 500 ; de 19 à 15 kilogrammes ; de 24 à 16 kilogrammes, etc...

Dans les premiers jours, le point cryoscopique du sang reste normal ; puis il s'élève. On constate après six ou sept jours une élévation de $\Delta = -0°60$ à $-0°68$; de $-0°64$ à $-0°67,6$; de $-0°67$ à $-0°66$; de $-0°60$ à $-0°70$ et même $-0°71$, etc... Ces phénomènes sont très différents de ceux qu'on observe dans l'inanition simple où la baisse de poids est bien moins rapide et où l'augmentation de concentration moléculaire du sang est beaucoup plus faible. D'autre part, les animaux soumis à l'inanition, mais non privés de boisson, ne présentent pas d'augmentation de la concentration moléculaire du sang. Le retour à la normale chez l'animal privé de liquide, auquel on donne à boire de l'eau, se fait très rapidement, en quelques heures.

2° ANIMAUX SOUMIS A UNE SUDATION FORCÉE. — Les lapins et les chiens placés dans une étuve sèche à 37°, 38°, 39°, pendant deux heures, présentent une élévation de la concentration moléculaire du sang, le point cryoscopique passant de $-0°59$ à $-0°70$.

II. — **Effets de l'élévation de la concentration moléculaire du sang** (11, 12)

En 1887, IVONOVI a montré qu'on peut provoquer des convulsions chez le chien, en injectant dans les veines des solutions concentrées de chlorure de sodium. Nous avons

1. Les chiffres placés après les titres renvoient à la liste chronologique des travaux, et indiquent ceux d'entre eux qui sont analysés.

montré, avec Lalou, que tous les cristalloïdes qui ne sont pas immédiatement toxiques pour l'animal peuvent, lorsqu'on les injecte à forte concentration, provoquer tous les signes de l'épilepsie externe (période tonique courte, période clonique plus longue et stertor, phénomènes oculaires et pupillaires, abolition du réflexe cornéen, etc...) et interne (élévation de la pression artérielle et vaso-constriction généralisée). Ces phénomènes se produisent, par exemple, après l'injection de sulfate de soude, de bicarbonate de soude, de glucose, de lactose, de saccharose, mais pas après injection de bromure de sodium.

Dans tous les cas, au moment où la crise apparaît, le point cryoscopique est plus bas que — 0°72 ; par exemple, après une injection à un chien de 15 kilogrammes, de 820 cm³ de solution contenant 310 grammes de glucose, maintenue à 37° et poussée dans la veine fémorale à une vitesse de 6 cm³ par minute, quand la crise apparaît, le point cryoscopique du sérum est $\Delta = -$ 0°74. On trouve pour un certain nombre de sels des chiffres plus bas encore.

III. — Modifications vasculaires provoquées par l'augmentation de concentration moléculaire du sang (2, 5)

A des chiens curarisés et dont la vie est entretenue par la respiration artificielle, on introduit une canule en T dans l'artère fémorale, canule reliée à un vase de Mariotte contenant des solutions maintenues à 39°. On injecte ainsi sous une pression connue, toujours la même, des solutions de chlorure de sodium, soit hypertoniques ($\Delta = -$2°40 à — 3°), soit hypotoniques ($\Delta = -$0°10 à — 0°20) ; on injecte 60 à 120 cm³ en une minute environ. On explore la pression artérielle au moyen d'un sphygmo manomètre enregistreur de Franck et les réactions vasculaires, au moyen de l'appareil pléthysmographique de Franck-Hallion. Dans ces conditions, on observe les phénomènes suivants : quand on injecte une solution hypotonique, on constate : pas de variations de la pression artérielle ou une légère baisse et une vaso-dilatation du rein. Par contre, dans les cas d'injection hypertonique, on constate : une élévation de la pression artérielle, une vaso-dilatation locale, une vaso-dilatation rénale, intestinale, linguale, phénomènes qui ont pour effet d'augmenter considérablement la vitesse du sang.

Ces phénomènes cardio-vasculaires ne sont pas le fait d'une action directe du sang de concentration moléculaire exagérée sur les centres puisque, nous l'avons vu plus haut, ces phénomènes produisent, au contraire, en même temps que l'élévation de pression, une vaso-constriction généralisée. Au surplus, les phénomènes produits par l'injection hypertonique se déclanchent instantanément ; il s'agit donc de réflexes, dont ce point de départ se trouve dans l'endothélium des vaisseaux, et dont la transmission pourrait se faire par les nerfs vaso-sensibles de Heger.

Où est le centre de ces actions réflexes ? Si l'on sectionne le bulbe rachidien au niveau de son union avec la protubérance annulaire, les réactions précédentes ne sont pas entravées ; au contraire, on ne peut plus les reproduire, si on isole le bulbe de la moelle. Le centre serait donc bulbaire. En effet, si on cocaïnise le bulbe, l'excitation locale par une solution hypertonique ne produit pas de réaction vasculaire ; quand l'effet de la cocaïnisation a disparu, la réaction redevient possible.

Les phénomènes vasculaires dus à une augmentation de la concentration moléculaire du sang se produisent dans tous les territoires vasculaires que nous avons examinés. En particulier, si l'on introduit une solution hypertonique dans l'estomac, on provoque un appel d'eau et une augmentation de la concentration moléculaire du sang qui irrigue l'organe ; immédiatement, on constate les mêmes réactions vasculaires que lorsqu'on injecte une solution hypertonique dans une patte.

IV. — Réserves d'eau dans l'organisme et leur mobilisation (58)

Recherchant s'il y a des réserves d'eau dans l'organisme et où elles peuvent se localiser, nous avons constaté : 1° que l'eau ingérée ne demeure pas dans le sang circulant. Si, par exemple, à un chien de 10 kilogrammes, on fait ingérer à la sonde 600 cm³ d'eau, la quantité d'eau du sang qui était auparavant de 800 p. 1 000 est après de 807 p. 1 000 ;

2° Si l'on injecte une petite dose d'eau salée (de 3 à 16 p. 1 000) dans la veine porte, elle demeure dans le foie, le sang circulant n'est pas dilué. Inversement, si on fait une fistule d'Eck temporaire, après injection d'eau salée dans une veine mésaraïque, la quantité d'eau du sang circulant augmente ;

3° Si la quantité d'eau injectée dans la veine porte est plus forte, la quantité d'eau du sang sus-hépatique et carotidien augmente ;

A partir de ce moment, on se retrouve dans un cas identique à celui des injections intraveineuses d'eau salée, étudié par Dastre et Loye, Engels, Achard et Loeper. Tous ces expérimentateurs ont reconnu que l'eau injectée ne demeure pas dans le sang. Engels pensait qu'elle passe dans les muscles ;

4° Or, si l'on injecte dans le sang des quantités d'eau correspondant à une injection forte, non pas énorme, la quantité d'eau des muscles n'augmente pas et même le plus souvent diminue. La quantité d'eau du foie augmente toujours, mais insuffisamment pour constituer le principal dépôt de l'eau ;

5° On est donc conduit à supposer que le dépôt physiologique de l'eau, son principal lieu de fixation temporaire est le tissu musculaire sous-cutané, périmusculaire et sous-séreux. Ce tissu constitue une surface considérable de plusieurs mètres carrés ; or, une augmentation d'un demi-millimètre d'épaisseur, invisible, permet de loger 500 cm³ par mètre carré.

V. — Régulation de la tension osmotique du sang et mécanisme psycho-physiologique de la soif (2, 3, 4, 5)

La concentration moléculaire du sang demeure fixe dans l'organisme normal. Recherchant les mécanismes régulateurs de cette fixité, j'ai montré que les phénomènes vasculaires décrits plus haut constituent un premier mécanisme régulateur mis en jeu, lorsque la concentration du sang augmente dans un territoire vasculaire quelconque de l'économie ; elle détermine, en effet, un brassage du sang.

Quand la concentration augmente dans le sang total, l'organisme doit faire appel aux réserves d'eau. Si celles-ci sont insuffisantes, la soif apparaît ; j'ai distingué des soifs

locales comme la soif d'origine gastrique, qui se produit lorsqu'on ingère des solutions hypertoniques et la soif générale corrélative d'une augmentation générale de la concentration moléculaire du sang. Les animaux privés de liquide et dont la concentration augmente, ont une soif ardente. Si à un chien, chez qui le point cryoscopique du sang a passé en quatre jours de — 0°60 à — 0°65 pendant que le poids descendait de 12 à 9 kilogrammes, on injecte dans la veine fémorale deux litres d'eau bouillie salée dont $\Delta = -0°18$ en deux heures, l'injection terminée, l'animal à qui on présente de l'eau n'a plus soif. Par contre, chez un autre chien, chez qui le point cryoscopique a passé de — 0°60 à — 0°68 pendant qu'il maigrissait, lui aussi, de 4 kilogrammes, on injecte une solution dont $\Delta = -0°65$; après une injection de deux litres de solution en deux heures, il boit 2 litres 1/2 d'eau. Cette expérience précise une expérience classique de MAGENDIE, et montre que la soif dépend, non pas du manque d'eau, mais de l'augmentation de la concentration moléculaire du sang.

Chez l'homme, on sait qu'au cours d'une certaine maladie, le diabète insipide, la soif est intense. J'ai pu montrer que la concentration moléculaire du sang chez ces malades augmente dès qu'on les prive de boisson pendant une heure et dans des proportions considérables et que c'est à ce moment que la soif apparaît[1].

J'ai fait une étude psycho-physiologique des caractères de la soif, en recherchant d'abord quels sont les concomitants physiologiques de la sensation de soif chez l'homme et en étudiant les éléments de cette sensation. Cet ensemble d'études sur la soif a servi de point de départ aux recherches ultérieures, notamment à celles de CANNON qui a confirmé nos résultats.

1. La mise en évidence de ce phénomène a été le point de départ d'études nouvelles sur le diabète insipide, notamment de celles d'AMBARD.

II

ÉTUDES SUR LA SÉCRÉTION URINAIRE

I. — Études sur les conditions mécaniques circulatoires de la sécrétion urinaire (avec H. LAMY) (20, 21, 39, 40, 42, 43, 46)

Pour étudier dans quelle mesure la sécrétion urinaire dépend des conditions mécaniques circulatoires, nous avons provoqué des polyuries, en particulier à l'aide d'injections intraveineuses de sucres. Nous nous sommes demandé si la polyurie produite par ces injections dépend : 1° de la pression sanguine et 2° de la vitesse de la circulation du sang dans les vaisseaux du rein. Cette seconde condition dépend elle-même, de trois facteurs : de la pression artérielle, du calibre des vaisseaux du rein, de l'état physique du sang.

A la question de savoir si les polyuries provoquées dépendent des conditions mécaniques circulatoires, les auteurs qui nous avaient précédés, Charles RICHET, ALBERTONI, HÉDON et ARROUS, STARLING, GOTTLIEB et MAGNUS, avaient fait des réponses qui ne concordaient pas. Après avoir déterminé quelles sont les conditions expérimentales dans lesquelles on peut, avec le minimum de chances d'erreur, étudier les phénomènes circulatoires au cours de la diurèse chez le chien, nous avons entrepris une longue série d'expériences qui nous a donné les résultats suivants :

A. PRESSION ARTÉRIELLE ET CALIBRE DES VAISSEAUX DU REIN AU COURS DE LA DIURÈSE. — Tout d'abord, il existe une valeur de la pression au-dessous de laquelle il n'y a jamais de diurèse, mais cette valeur est extrêmement basse. On peut encore provoquer des polyuries par injection intraveineuse de sucre, quand la pression est de 1 à 2 centimètres de mercure. D'autre part, au-dessous d'un certain degré de vaso-constriction, la polyurie sucrée s'arrête. Mais il y a lieu d'écarter ces cas extrêmes comme peu physiologiques. Si l'on s'en tient aux expériences où ni l'abaissement de pression, ni la vaso-constriction ne sont aussi accentués et si l'on examine ce que deviennent la pression artérielle et le calibre des vaisseaux du rein (mesuré par la pléthysmographie) pendant la polyurie, on constate que ces phénomènes circulatoires peuvent se présenter sous divers types.

a) *Premier type.* — Dans certains cas — ce sont ceux qui sont considérés comme étant la règle par les auteurs classiques — la pression artérielle s'élève et le rein se dilate; ajoutons : les battements du rein augmentent d'amplitude. Mais ce parallélisme de l'élévation de pression, de la vaso-dilatation, sont exceptionnels. On peut, en effet, observer les cas suivants : 1° la pression s'élève et le rein se dilate d'une façon continue; mais la dilatation vaso-rénale progressive se poursuit encore quand la sécrétion urinaire a cessé; 2° la pression s'élève et le rein se dilate d'une façon discontinue, sans parallélisme avec la diurèse; 3° la pression s'élève et le volume du rein augmente; et la diurèse est nulle.

b) *Deuxième type.* — Dans un certain nombre de cas, la pression et le volume restent invariables et cependant, la polyurie s'établit. Il est possible de réaliser ces conditions presque à coup sûr : il suffit de chloraliser l'animal assez profondément pour supprimer les réactions cardio-vasculaires.

c) *Troisième type.* — Quelquefois, la pression s'abaisse ou reste constante : le volume du rein augmente, soit pendant toute la polyurie, soit au début seulement.

d) *Quatrième type.* — Enfin, dans certains cas, relativement rares, nous avons vu la diurèse s'établir pendant que la pression s'abaisse et que le volume du rein diminue.

Ainsi, nos expériences montrent qu'à la suite des injections intraveineuses de sucres, on peut observer à peu près tous les types de réactions circulatoires; il n'y en a aucune qui soit en rapport constant avec la polyurie.

B. Variations de l'état physique du sang. — La vitesse circulatoire peut être influencée non seulement par les variations de la pression sanguine et du calibre des vaisseaux, mais encore par celle de la fluidité du sang. Nous avons évalué cette dernière en mesurant la viscosité du sang. Nous avons vu que l'injection intraveineuse de sucre est toujours suivie d'une diminution de cette viscosité. Mais la viscosité sanguine n'est pas toujours abaissée quand la diurèse commence; et, au cours des expériences, il n'y a pas de parallélisme entre la diurèse et les modifications de la viscosité.

Nos expériences montrent donc qu'on ne peut établir de relation constante entre la polyurie produite par les injections intraveineuses de sucres, d'une part, et d'autre part, l'élévation de la pression artérielle ou l'accélération de la circulation sanguine.

II. — Etudes sur les conditions physiques de la polyurie provoquée

(avec H. Lamy) (48, 50, 51, 53, 54)

Si les polyuries provoquées par injections intraveineuses de cristalloïdes ne dépendent pas des phénomènes mécaniques circulatoires, ont-elles pour conditions un travail réel des cellules du rein et quels sont les caractères de ce travail? Est-ce un travail actif, constant, et portant également sur tous les éléments de l'urine?

Pour nous en assurer, nous avons comparé des éléments pris dans le sang et dans l'urine au même moment, au cours des polyuries provoquées.

Remarquons d'abord que si l'on fait une circulation artificielle à travers un rein extrait de l'animal au moyen d'un liquide contenant de l'eau, du chlorure de sodium, du glucose et de l'urée, la composition du liquide sécrété est la même que celle du liquide injecté et le rapport des concentrations des trois éléments dissous est le même dans les deux liquides. Le rein mort n'accomplit donc aucun travail actif.

Par contre, si nous observons ce qui se passe chez l'animal après injection diurétique de sucres dans les veines, on observe les faits suivants :

a) Dans un grand nombre de cas, la concentration moléculaire totale de l'urine est supérieure à celle du sang. Les cellules rénales accomplissent donc un *travail réel.*

b) Dans le sang, la concentration en sucre va diminuant; dans l'urine, elle va augmentant. Dans le même temps, la concentration des sels varie extrêmement peu dans le sang,

tandis qu'au contraire dans l'urine, la concentration des sels et de l'urée diminue d'une façon continue et non parallèle. Les cellules rénales accomplissent donc *un travail variable* puisque, en ce qui concerne le sucre, la différence entre les concentrations dans le sang et dans l'urine s'accroît du début à la fin de l'expérience ; et, en ce qui concerne les sels, la concentration de l'urine, d'abord supérieure à celle du sang, lui devient égale, puis inférieure, entre le début et la fin de l'expérience.

c) Enfin, les cellules rénales accomplissent *un travail électif*, puisque le travail de concentration porte seulement sur un des cristalloïdes, le sucre et non sur les autres, sels et urée. Il y a donc, au sens étymologique du mot (*secernere*) sécrétion.

Temps.	Sang. Δ total.	Sang. Δ des sels.	Sang. Sucre p. 1000.	Urine. Quantité en centimètres cubes	Urine. Δ total.	Urine. Δ des sels.	Urine. Urée par litre.	Urine. Sucre p. 1000.	Observations.
SACCHAROSE. — Expérience du 15 décembre 1904. Danois mâtiné de dogue, vieux.									
3 h. 23. . . .	—0,60	—0,37	1,22	?	—2,54	—0,26	58,20	0	
Injection 100 grammes de saccharose dans 108 centimètres cubes d'eau.									
3 h. 28. . . .	—0,66	—0,37	?	48	—0,05	—0,11	5,40	72	
3 h. 43. . . .	—0,63	—0,37	10,88	105	—0,37	—0,07	3,34	100	
4 h. 13. . . .	—0,64	—0,37	5,62	103	—0,98	—0,04	2,79	116,5	
5 h. 13. . . .	—0,65	—0,37	2,00	82	—0,95	—0,03	2,50	166,33	

C. Facteurs de la sélection rénale. — Nous voyons donc que, la concentration d'un élément restant constante dans le sang, le rein peut en éliminer tantôt plus, tantôt moins. Quels sont donc les facteurs de cette sélection tantôt positive et tantôt négative ?

Sélection positive. — *Agents pharmacologiques.* — On savait par les expériences d'Ascher et Michaud qu'une injection de caféine faite à un animal provoque chez lui une sécrétion abondante de chlorure de sodium. Nous avons montré que l'injection de pilocarpine a pour effet de modifier l'allure de la sécrétion de glucose après injection de cet élément. Nous avons encore montré que l'injection de petites quantités d'azotate de calcium a pour effet, la teneur en chlore du sang restant constante, d'augmenter considérablement la concentration de cet élément dans l'urine, en même temps, d'ailleurs, que celle de l'urée. Voici l'un des exemples les plus nets. Expérience faite sur un chien 16 kilogrammes. (Voir tableau page 42).

Sélection négative. — Nous avons montré que lorsqu'on injecte dans le sang une solution concentrée d'un cristalloïde et qu'il s'élimine abondamment, la concentration des autres cristalloïdes que contenait antérieurement l'urine s'abaisse brusquement. Ce phénomène n'est pas dû seulement à la dilution, car on peut, dans de certaines conditions, et bien que le débit de l'eau de l'urine diminue, observer une diminution progressive du débit du chlorure de sodium éliminé : il y a imperméabilité au chlorure de sodium.

Temps.	Urine.			Sang.	
	Quantité en centimètres cubes	Cl.	Urée.	Eau p. 1000.	Cl.
120 minutes	?	5,60	10,30	»	»
30 —	14	5,40	10,30	786	4,80
	Injection 0 gr. 30 Ca $(NO^3)^2$		»	»	»
30 —	30	7,00	22,10	»	»
60 —	42	9,20	20,20	784	4,70
30 —	29	11,20	45,70	»	»
30 —	30	11,60	41,25	779	4,85

Cette imperméabilité dépend, par un mécanisme encore inconnu, de la teneur de l'organisme en NaCl.

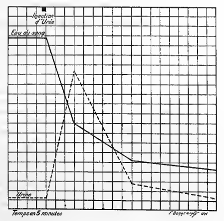


Fig. 1 (*Expérience, 9 décembre 1905*). — Courbe des débits de l'eau sanguine et de l'eau urinaire avant et après injection intracranienne massive (4 gr. par kg.) d'urée. (La courbe du débit urinaire est amplifiée. L'échelle est cinquante fois celle de la courbe sanguine.)
Le débit du sang diminue; le debit de l'urine augmente.

Remarque : *Rapport* Δ/ *NaCl de l'urine.*

On observe des modifications de ce genre sur l'homme sain, soumis à une alimentation pauvre en chlorure de sodium. Koranyi et ses élèves avaient attiré l'attention sur le rapport de

la concentration moléculaire totale de l'urine à la concentration du chlorure de sodium (Δ/NaCl). Ils croyaient ce rapport constant chez l'homme sain et étaient partis de cette idée pour construire une théorie de la sécrétion rénale qui avait vivement attiré l'attention. Par une expérience poursuivie pendant vingt-quatre jours sur moi-même en me soumettant à une alimentation pauvre en chlorure de sodium, j'ai montré que ce rapport était, au contraire, extrêmement variable, et que la sécrétion de chlorure de sodium dépendait de la quantité de sel mise en réserve par l'organisme.

III. — Rôle des cellules rénales dans la sécrétion de l'eau (avec H. Lamy) (55, 56, 60, 67)

Les cellules rénales ne se comportent pas comme une membrane de perméabilité invariable aux cristalloïdes, mais, au contraire, jouent dans la sécrétion un rôle actif. En ce qui concerne le passage de l'eau, en est-il de même? Pour le savoir, nous avons institué des expériences d'un type nouveau dans lesquelles on comparait d'une part, le débit de

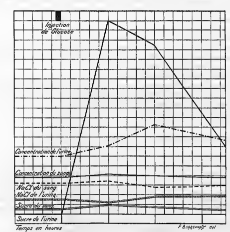


Fig. 2 (*Expérience, 29 juin 1905*). — Courbes de la concentration totale de l'urine et du sang, de la concentration en NaCl et en glucose de l'urine et du sang, avant et après une injection à faible dose (1 gr. par kg.) de glucose. (L'échelle des courbes de sucre et de sel est la même. La concentration totale, mesurée par le point cryoscopique, a une échelle spéciale.)

La concentration du sang ne varie pas; la concentration de l'urine augmente considérablement.

l'eau du sang circulant à travers le rein et, d'autre part, celui de l'eau de l'urine; nous

nous sommes demandé : ces deux débits sont-ils ou non parallèles; s'ils le sont, le sont-ils toujours? La polyurie aqueuse est-elle la conséquence directe d'une accélération de la circulation sanguine? ou est-elle le fait d'une activité propre du rein?

Quand on provoque des polyuries expérimentales en faisant des injections intraveineuses de cristalloïdes, on constate les faits suivants :

1° Dans certains cas (à la suite d'injections massives de sucre ou de NaCl), on constate un certain parallélisme entre le débit sanguin et le débit urinaire ; la polyurie aqueuse est donc dans ce cas une polyurie passive.

Mais on observe : *a*) qu'une même accélération du sang produite par une même substance n'amène pas toujours une même accélération du débit urinaire. Par exemple,à la suite d'injections de saccharose, on voit dans une expérience le débit de l'eau du sang devenir deux fois plus grand pendant que le débit urinaire devient quarante fois plus rapide ; dans une autre, le débit de l'eau du sang devient 1,5 fois plus grand et le débit urinaire deux cents fois plus fort.

b) Que différentes substances accélérant également le cours du sang accélèrent inégalement le débit urinaire. Par exemple, il se trouve qu'une injection de chlorure de sodium dans une expérience, une injection de saccharose dans une autre, accélèrent également le cours du sang ; or, dans la première expérience, le débit de l'urine est devenu six fois plus fort et, dans la seconde, quarante-six fois.

c) Un certain temps après qu'on a fait varier la composition du sang, son cours se ralentit, le cours de l'urine restant accéléré. Par exemple, au cours d'une expérience, le débit du sang, une heure après une injection, n'est plus que le tiers de ce qu'il était avant, alors que le débit de l'urine est encore vingt fois plus fort qu'au début.

2° Si l'on fait des injections intraveineuses, non plus de doses massives, mais de doses moyennes (1 gr. par kilogr. d'animal) de sucre, de chlorure de sodium ou d'urée, on constate qu'à la suite de l'injection, apparaît une augmentation du débit urinaire, mais que cette augmentation n'est pas corrélative d'une augmentation du cours du sang dans le rein. Elle se manifeste même alors qu'il existe un ralentissement du cours de l'eau du sang dans le rein. Voici trois exemples de ce fait :

Débits calculés pour dix minutes.

Sang.		Urine.
Débit du sang en centimètres cubes.	Débit de l'eau du sang en centimètres cubes.	Débit de l'urine en centimètres cubes.

I. — Décembre 1905. Chien de montagne. 20 kilogrammes.

1 714	1 402	0,33
Injection de 10 grammes d'urée dans 40 centimètres cubes d'eau.		
1 200	979	5,75
666	542	2,11

Débits calculés pour 10 minutes.		
Sang.		Urine.
Débit du sang en centimètres cubes.	Débit de l'eau du sang en centimètres cubes.	Débit de l'urine en centimètres cubes.
II. — Gros dogue. 17 kilogrammes.		
3 000	2 379	1,3
Injection de 17 grammes de saccharose dans 50 centimètres cubes d'eau.		
1 714	1 354	17,3
1 714	1 335	2
857	628	2,25
III. — Bâtard. 14 kilogrammes		
1 200	958	1
Injection de 10 grammes de NaCl dans 100 centimètres cubes d'eau.		
923	760	36,6
800	650	15,6
631	509	4,5

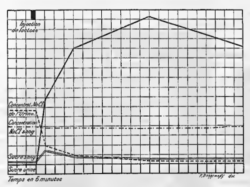


Fig. 3 (*Expérience, décembre 1904*). — Concentration du sucre et du chlorure de sodium dans le sang et dans l'urine avant et après une injection intraveineuse massive (3 gr. par kg. d'animal) de lactose. L'échelle des courbes de NaCl est amplifiée quatre fois par rapport à celle des courbes de sucre.

La concentration du sucre, après une brusque augmentation, va décroissant dans le sang; au contraire, elle va croissant dans l'urine. La concentration de NaCl reste invariable dans le sang; elle va diminuant dans l'urine.

Ce même phénomène se présente dans le plus grand nombre des cas où l'on fait des injections, même massives, d'urée. A la suite des injections, on constate quelquefois une augmentation du débit du sang et un enrichissement en eau, mais le plus souvent, c'est l'inverse qui se produit : le cours du sang se ralentit, le sang devient moins riche en eau et pourtant, il y a augmentation du débit urinaire. Par exemple, dans un cas, tandis que le débit de l'eau du sang passe de 1602 cm³ en dix minutes à 1600, 1510, 864 cm³, le débit urinaire dans le même temps passe de 0,6 cm³ à 30, 11 et 1,1.

Dans tous ces cas, on voit donc que la polyurie aqueuse est une polyurie active et que même dans la sécrétion de l'eau, les cellules rénales jouent un rôle actif.

IV. — **Discussion des théories de la sécrétion rénale** (avec H. Lamy) (64, 69, 86, 87, 88)

Les faits qui précèdent nous ont permis de discuter les théories classiques de la sécrétion urinaire et de montrer qu'aucune d'entre elles ne cadre avec les faits. Il est impossible d'expliquer le passage de l'eau à travers le rein, soit par des phénomènes de diffusion, soit par des phénomènes d'osmose ; ni les conditions hydrodynamiques, ni les conditions physiques de ces phénomènes ne se trouvent réalisées au cours des polyuries aqueuses. De même, pour ce qui est de l'élimination du chlorure de sodium ou du saccharose, il est facile de montrer que les processus physiques simples, invoqués pour les expliquer, ne cadrent pas avec les faits. La perméabilité rénale n'est pas la même en toutes circonstances, soit pour tel ou tel cristalloïde, soit pour l'eau ; cela montre clairement que toutes les théories qui sont basées sur l'idée que le rein se comporte comme une membrane invariable sont inopérantes. En fait, le rein se comporte physiologiquement comme une glande.

V. — **Recherches sur l'histophysiologie du rein** (avec H. Lamy et Rathery) (52, 69, 61, 62, 63, 66, 68, 83, 84, 85, 94, 100, 108, 111, 112)

Peut-on trouver, dans l'étude histologique et cytologique du rein, les éléments de cette glande rénale ? C'est ce que nous avons cherché. Pour cela, nous avons fait une étude systématique du rein de certains Mammifères (chien, lapin, rat), d'un Reptile (Tubinambis Teguixin) pour voir quelles sont les modifications histologiques ou cytologiques qui se produisent au cours des polyuries expérimentalement provoquées.

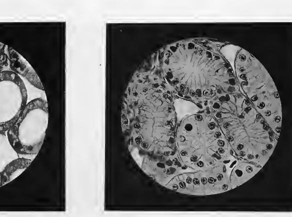
Espaces lymphatiques. — Au point de vue histologique, nous avons montré qu'au cours de la sécrétion, en outre des phénomènes déjà connus (élargissement de la lumière des tubes urinifères, aplatissement des cellules rénales dont la bordure en brosse est conservée, déjà constatés par Disse, Sauer, Renault), il se produit un autre phénomène très considérable ; l'élargissement des espaces intertubulaires. Sur les coupes, les membranes basales des tubes contournés *ne sont plus en contact* comme normalement, mais *séparées* par des espaces clairs, de surface variable, dans lesquels on aperçoit comme seuls éléments quelques rares cellules étoilées assez semblables aux cellules conjonctives. Ces espaces apparaissent, quelle que soit l'origine de la polyurie aqueuse ; et, au cours des grandes polyuries, ils atteignent des dimensions comparables à celles des tubes eux-mêmes. Nous

PLANCHE I

Microphotographies de préparations du rein de Tupinambis Teguixin. Fixation par le liquide de Van Gehuchten-Sauer. Coloration à l'hématoxyline ferrique. Objectif Zeiss. Immersion : 1/12. Oculaire de projection n° 2. Micromètre objectif : 1/100 mm.

A. Rein normal. — B. Rein en état de polyurie.

(Élargissement des espaces intertubulaires ; agrandissement de la lumière des tubes ; remaniement protoplasmique).









B

A

PLANCHE II

FIGURE 1. — Rein normal de chien. Fixation au liquide de FLEMMING fort. Coloration au liquide de GALEOTTI.

FIGURE 2. — Deuxième rein du même animal enlevé une heure après injection de saccharose (5 gr. par kg.). Mêmes fixation et coloration. Immersion : 1/5. Oculaire 2.

(Élargissement des espaces intertubulaires ; élargissement de la lumière des tubes ; remaniement protoplasmique ; vacuoles.)

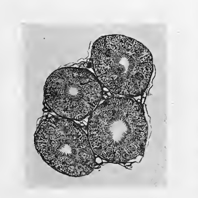


FIG. 1

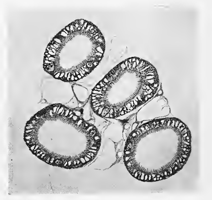


FIG. 2

avons pu constater ce phénomène sur des coupes non fixées examinées, sur fond noir, avec éclairage latéral. Ce phénomène microscopique se traduit d'ailleurs à l'œil nu, par ce fait que le rein tout entier se gonfle et que la densité de l'organe diminue.

On retrouve donc dans le rein l'analogue des espaces lymphatiques qui existent dans toute glande.

Glomérule. — Quant aux éléments cytologiques de la glande, nous les avons d'abord cherchés dans les glomérules rénaux. Mais dans aucun cas, nous n'avons pu mettre en évidence une différence quelconque entre les glomérules du rein normal et ceux du rein en état d'hypersécrétion. Par contre, nous avons attiré l'attention sur une fonction du glomérule qui, en raison de sa structure, est un organe pulsatile dont les mouvements peuvent rendre compte de l'amplitude du pouls du rein. Nous avons pensé que ces pulsations avaient pour résultat de favoriser la progression de l'urine secrétée dans les tubuli. Ce rôle est difficile à mettre en évidence. Des études faites en réalisant des circulations artificielles à travers des reins extraits de l'organisme, nous ont seulement montré que le débit de la veine et de l'uretère sont toujours plus grands, si le liquide est lancé par des pulsations rythmées que s'il s'écoule continûment, la pression moyenne étant la même.

Cellules des tubes urinifères. — Toute hypersécrétion d'eau ou de cristalloïde s'accompagne au contraire toujours de modifications visibles des cellules des tubes urinifères et surtout des tubes contournés. Dans les polyuries légères, on voit apparaître, dans la zone sus-nucléaire, des vésicules très abondantes ; en même temps, les stries fuchsinophiles sont remplacées par de fines granulations plus ou moins accolées encore en lignes sinueuses. Dans les grandes polyuries, le noyau se couche parallèlement à la membrane basale, ses caractères de coloration se modifient ; les vacuoles deviennent extrêmement nombreuses, disséminées dans toute la cellule ; et les granulations sont essaimées dans le protoplasma tout entier, tassées les unes contre les autres par les vacuoles. Tout ce remaniement cytoplasmique se répare d'ailleurs très vite, les cellules rénales étant douées d'une grande plasticité morphologique. Toutefois, après les polyures répétées, on constate souvent des lésions durables. Il y a lieu de remarquer que les vacuoles apparaissent même dans le cas où la sécrétion est abondante en cristalloïdes et pauvre en eau.

Ces constatations cytologiques, très rapidement résumées, conduisent à penser que c'est dans les cellules des tubes contournés qu'il faut chercher les éléments de la glande rénale. C'est par les tubes contournés que sont sécrétés certains corps comme les métaux colloïdaux, ainsi que nous l'avons montré. Ils seraient aussi la voie de l'élimination des cristalloïdes.

Qu'une simple rangée de cellules puisse avoir une action sécrétoire de ce genre, c'est ce que nous a montré notre étude sur le corps fungiforme du poulpe, qui se comporte comme un rein.

Ainsi la sécrétion urinaire se ferait en deux temps. Dans un premier temps, il y aurait passage de liquide et d'éléments dissous du sang vers les espaces interbulaires, à travers les parois des capillaires rénaux. Dans un second temps, les cellules exerceraient sur ce liquide leur action sélective et rejetteraient l'urine dans les tubes urinifères, où elle cheminerait en partie, grâce aux mouvements de piston provoqués par la pulsation de glomérule.

Nos recherches sur la sécrétion urinaire ont été le point de départ de celles de plusieurs physiologistes et notamment des belles recherches d'Ambard.

III

ÉTUDES SUR LA VISCOSITÉ DES LIQUIDES DE L'ORGANISME

I. — Viscosité et échanges osmotiques (6)

On peut montrer, par une expérience simple faite au moyen d'un osmomètre de Dutrochet, que la vitesse des échanges osmotiques entre deux solutions inégalement concentrées, placées de chaque côté de la membrane, diminue beaucoup, lorsqu'on dissout dans ces solutions des substances visqueuses comme les gommes. J'ai constaté de même que la plasmolyse ou l'hématolyse par les solutions hypotoniques sont entravées, quand les liquides hypotoniques sont rendus artificiellement très visqueux.

II. — Mesures viscosimétriques (7)

J'ai construit un viscosimètre dont le principe est analogue à celui d'Ostwald (calcul du temps que mettent les liquides à remplir un espace donné, après avoir traversé un capillaire de longueur donnée) ; mais, par suite de la forme en U du capillaire, il n'y a pas lieu, dans la pratique, d'appliquer de correction de densité aux mesures.

III. — Viscosité des liquides de l'organisme (8, 10, 13, 14)

A l'aide de cet appareil, j'ai mesuré les coefficients de viscosité du sérum et du plasma sanguin normaux.

Serum. — Pour une même espèce, le serum a un coefficient qui oscille remarquablement peu autour d'un chiffre normal. Par exemple, pour le mouton, le coefficient oscille entre 1,69 et 1,75. Les coefficients trouvés sont, en moyenne, pour le porc 1,69 ; pour le mouton 1,70 ; pour le bœuf 1,77 ; pour le cheval 1,72 ; pour le lapin 1,43 ; pour le chien 1,56 ; pour l'homme 1,56.

Plasma. — Au contraire, la viscosité du plasma des animaux d'une même espèce varie considérablement. Par exemple, chez le chien, elle oscille de 1,58 à 2,29. Ces variations de viscosité ne sont pas du tout parallèles aux variations de densité du plasma ; elles ne suivent pas non plus les modifications de la teneur en eau, ni celles du poids du fibrinogène contenu dans le plasma. Elles ne peuvent donc s'expliquer que par une variation d'état des albuminoïdes du plasma sanguin.

On peut observer des modifications de ce genre au cours du lavage du sang.

IV. — Étude viscosimétrique sur la coagulation des albuminoïdes du plasma sanguin par la chaleur et sur la précipitation par les sels (9)

Les mesures de viscosité permettent d'apprécier les variations internes des liquides de l'organisme, en particulier, quand on les soumet à l'action de la chaleur, des acides, des alcalis, etc...

En ce qui concerne l'*action de la chaleur*, on voit que :

1° Lorsqu'il va se produire une coagulation des albuminoïdes, avant qu'aucun autre signe, même l'opalescence, même l' « effet Tyndall » n'en avertisse l'observateur, il existe déjà des variations internes se traduisant par une augmentation de viscosité, augmentation qui va en s'accentuant de plus en plus jusqu'à la coagulation. Par exemple, en opérant sur un plasma débarrassé de globulines par coagulation à 56° et filtration, si on répartit ce plasma dans des tubes soumis ensuite pendant dix minutes à l'action de la chaleur à une température donnée, on constate :

Après action de la chaleur à.	40°	58°	60°	62°	64°	66°	68°	70°	72°	74°
La viscosité = η. . .	1,66	1,66	1,66	1,66	1,88	2,54	5,62	13,15	Caillot mobile.	Coagulum adhérent.

2° A une même température, la viscosité augmente avec la durée du chauffage. Par exemple, un plasma dont $\eta = 1,72$ à 40° est chauffé à 66°. On trouve après :

	10 minutes.	20 minutes.	30 minutes	40 minutes de chauffage.
La viscosité η.	2,61	5,22	7,41	Coagulum.

La courbe de viscosité est profondément influencée et même totalement modifiée par la présence de sels neutres.

En ce qui concerne l'*action des sels précipitants* sur la viscosité du plasma, on voit que la viscosité augmente au moment où va se produire la coagulation. Par exemple :

Plasma + O sel	Viscosité $\eta = 1,64$
— + 1 p. 100 NaCl	— = 1,64
— + 2 —	— = 1,70
— + 3 —	— = 1,96 précipitation.

Ces recherches ont donné naissance à un important mouvement d'études. Leurs résultats ont été confirmés et étendus par Cesana, Rossi, Cervello et Pitini, Botazzi, W. Ostwald, etc...

IV

RECHERCHES SUR L'ÉTAT COLLOÏDAL, LA STABILITÉ DES COLLOIDES, LES COMPLEXES COLLOIDAUX

I. — **Action des radiations du radium sur les colloïdes** (avec V. Henri) (28, 38)

Hardy avait fait agir les radiations d'un sel de radium sur des solutions d'acide ou d'alcali-albumine qu'il observait sous le microscope ; il avait vu ces solutions se précipiter.

Nous avons fait agir sur des colloïdes positifs ou négatifs les radiations β du radium, en employant 8 centigrammes de bromure de radium pur prêtés par M. Curie ; 2 cm³ des solutions colloïdales étaient placés dans des tubes et soumis à l'action du radium pendant cinq jours. Les expériences ont porté sur trois colloïdes négatifs : argent colloïdal, ferrocyanure de cuivre, bleu d'aniline et sur trois colloïdes positifs ; hydrate de fer, rouge de Magdala, violet de méthyle. Nous avons observé que les trois colloïdes positifs étaient précipités, les trois colloïdes négatifs restant intacts. Les radiations β étant chargées négativement, nous avons conclu que ce résultat apportait un argument nouveau en faveur de la théorie électrique de la précipitation des colloïdes.

II. — **Sur le transport électrique des colloïdes inorganiques** (avec Salles) (106)

On considère communément le transfert des colloïdes inorganiques comme très analogue au phénomène de Porret : les granules colloïdaux de charge invariable seraient transportés d'un pôle à l'autre à la manière des poudres. Dès lors, la vitesse de transport des colloïdes devrait être proportionnelle à la différence de potentiel entre les électrodes et non à l'intensité du courant. Cette vitesse devrait être uniforme, et une colonne de colloïde, placée dans un tube entre deux électrodes, devrait se déplacer en bloc d'un pôle à l'autre. En examinant le transport du trisulfure d'arsenic longuement dialysé, nous avons constaté que ce transport n'est pas uniforme ; il comporte une certaine mise en train ; l'action qu'il détermine croît progressivement jusqu'à une certaine limite ; les granules colloïdaux grossissent et se ralentissent à l'extrémité de la colonne voisine de l'électrode de signe contraire ; ils diminuent de grosseur, se désagrègent et s'accélèrent à l'autre extrémité de la colonne. Ces phénomènes s'inversent quand on renverse le courant. Ils sont corrélatifs d'une mise en liberté d'électrolytes qui se traduit par une augmentation de conductivité électrique ; ils s'exagèrent quand on ajoute des électrolytes au milieu. Ces faits nous ont conduits à émettre l'hypothèse que le transport du colloïde inorganique dépend des ions des électrolytes présenta ou des ions provenant de sa décomposition par le courant.

III. — Antion des acides et des alcalis sur l'albumine (70, 78)

A. Acides, bases et sels. — On savait qu'en faisant agir les acides et les alcalis sur l'albumine naturelle, on change complètement ses propriétés. Les acidalbumines formées instantanément à l'ébullition, lentement à froid (Goldschmidt) sont précipités par addition de sels neutres (Ringer et Sainsbury); elles précipitent par neutralisation. Placées dans un champ électrique, elles se transportent vers le pôle négatif; elles sont précipitées par l'addition de colloïdes instables négatifs (Hardy, Pauli, etc...). Les alcali-albumines formées par addition de bases en faibles quantités sont précipitées par neutralisation, l'addition de sels de bases bivalentes, de colloïdes instables positifs; dans un champ, elles se transportent vers le pôle positif.

Les quantités d'acide et d'alcali qu'il faut ajouter à l'albumine sont telles qu'elles peuvent certainement la modifier chimiquement. Pour éviter ces modifications, nous avons dialysé l'albumine, placée en sacs de collodion. En opérant sur cette albumine dialysée, nous avons alors observé des phénomènes tout différents.

1° L'ovalbumine dialysée est capable de dissimuler, d'absorber une certaine quantité d'électrolyte. Si à de l'ovalbumine, on ajoute goutte à goutte des solutions centinormales d'électrolytes, en mesurant la conductivité électrique du mélange après chaque addition et si l'on détermine de combien la conductivité a varié pour l'addition d'une même quantité d'électrolytes, on constate que dans les limites comprises entre 1.10^{-5} et 1.10^{-4}, *l'ovalbumine pure absorbe plus d'acide* (HCl, No^3H, So^4H^2) *que de base* (NaOH, KOH) ou *de sel de base monovalente* (Na Cl, KCl); et plus de ces derniers que de sels de base bivalente, ou d'acide diatomique (Mg Cl^2, Ca Cl^2, NH^4 SO^4, Mg CO^4, Na^2SO^4, K^2SO^4).

2° *L'albumine dialysée additionnée de traces d'acide* ou *d'alcali et portée quelques secondes à l'ébullition acquiert immédiatement les propriétés des acid- ou alcali-albumines.* — Par exemple, une solution d'ovalbumine de conductivité, $99,10^{-6}$, additionnée d'HCl 0,0016N, placée quinze secondes au bain-marie bouillant et refroidie : précipite par neutralisation; par addition de sels neutres de Na, k, NH^4 Mg, Ca, Ba, Mn, Zn et Cu (N/50); par addition de As^2S^3 colloïdal et de Rouge Congo; ne précipite en aucune proportion par l'hydrate ferrique et le bleu de toluidine; dans un champ de 110 volts et de 8 milliampères, elle se transporte vers le pôle négatif. On peut former de même une alcali-albumine typique.

Les propriétés dont on a ainsi doté les albumines diffèrent par plusieurs points de celles des albumines positives ou négatives qu'on rencontre dans les liquides de l'organisme (précipitation par neutralisation, précipitation par les sels neutres, non-coagulation par la chaleur). On peut faire disparaître ces différences, en faisant réagir les sels et les bases non plus instantanément à chaud, mais lentement à froid.

3° *L'albumine dialysée additionnée de traces d'acide* ou *d'alcali et abandonnée à elle-même à la température du laboratoire* (ou *mieux à l'étuve à* 40°) *acquiert lentement avec le temps, les propriétés des albumines électro-positives* ou *électro-négatives.* — Par exemple, une solution d'ovalbumine de conductivité $= 99,10^{-6}$ additionnée de HCl 0,0016 N placée douze heures à 20° ou quatre heures à 40° ne précipite pas par neutralisation ni par addition de

sels neutres; elle précipite par les colloïdes négatifs; elle se transporte vers le pôle négatif; additionnée de sel neutre 0,007 N, elle coagule à 100°. On peut obtenir de même des albumines négatives.

Il apparaît donc que les acid- et alcali-albumines des classiques ne sont que l'extrémité d'une série qui commence à l'albumine pure rendue positive ou négative par des traces d'électrolytes. C'est qu'en effet :

4° Pour former des acid- ou alcali-albumines, il faut d'autant plus d'acide ou de base qu'il y a de sels neutres présents dans la liqueur.

Concentration de l'albumine en NaCl.	Concentration en CHl. (pour que l'albumine devienne incoagulable à 100°).	Concentration en NaOH (pour que l'albumine devienne incoagulable à 100°).
N	N	N
—	—	—
Pure 99,10-6	0,0016	(0,00024)
0,00115	0,0016	»
0,0024	0,0024	0,00069
0,024	0,0046	0,00115
0,115	0,0115	0,0046
0,16	0,016	0,0092
0,20	(*)	0,0126

(*) L'addition d'acide amène un précitpité à froid.

B. Étude des acidalbumines d'acides gras (avec G. Schaeffer) (118). — Les recherches précédentes nous ont permis d'approfondir l'action des acides et en particulier des acides gras sur l'albumine.

Nous avons examiné l'action sur l'albumine de différents acides (hydracides, oxacides, acides carbonique, borique, phosphorique, acides organiques). Puis, en raison de leur importance biologique, nous avons étudié l'action des acides gras saturés et non saturés.

Nous avons montré que les divers acides inorganiques et organiques ont, sur l'albumine, des actions très différentes qui ne sont pas en rapport avec leur dissociation. Le terme générique d'acidalbumine prête donc à confusion et il faut préciser l'action de chaque acide sur l'albumine. En étudiant le rôle de l'acide chlorhydrique, nous avons montré qu'il se traduit par une série de phénomènes successifs que nous avons groupés en cinq stades et qui donnent, pour caractériser l'effet d'un acide quelconque, des repères plus sûrs que la simple incoagulabilité par la chaleur.

Nous avons alors montré que les acides gras saturés ou non saturés, solubles dans l'eau ou liquides à la température ordinaire agissent sur l'albumine : les termes inférieurs, en donnant des acidalbumines typiques; les termes supérieurs, en précipitant l'albumine. Les acides valérianique et surtout caproïque et caprylique sont des précipitants énergiques de l'albumine. Cette propriété peut être utilisée en chimie biologique analytique. A notre instigation, Valéry a basé sur elle une méthode de dosage de l'albumine.

L'étude des acidalbumines des acides gras nous a montré un fait que nous avons étendu aux autres acidalbumines : une acidalbumine incoagulable par la chaleur, si elle ne con

tient pas d'acide en excès, abandonnée à elle-même, *redevient coagulable avec le temps*; nous avons donné à ce phénomène le nom de *rétrogradation des acidalbumines*.

Comparées aux acidalbumines, les alcali-albumines nous ont montré que l'action des bases sur l'albumine paraît en rapport avec leur dissociation. Les alcali-albumines rétrogradent très peu.

IV. — Influence de la réaction de milieu sur la précipitabilité des albuminoïdes et leur remise en solution (77)

A. Précipitabilité. — Nous avons montré que la précipitabilité de l'albumine par les sels ou par d'autres colloïdes dépend des électrolytes présents dans la liqueur au moment de la précipitation. En effet, si on fait dialyser très longuement de l'ovalbumine, elle cesse d'être précipitable par les acides, par les sels de zinc; elle n'est plus précipitable que très lentement par les sels de cuivre et l'hydrate de fer colloïdal.

Si on ajoute des sels neutres à cette albumine dialysée, elle ne recouvre pas sa précipitabilité, mais par contre, elle redevient précipitable, si on lui ajoute un acide ou une base, un sel acide ou un sel alcalin. Par exemple, une ovalbumine dont la conductivité $= 18.\ 10^{-6}$ ne précipite pas par les sels de zinc. Si on lui ajoute l'un des sels NaCl, Na^2SO^4, NH^4Cl, $MgCl^2$, $MgSO^4$, $CaCl^2$ jusqu'à la concentration 0,5N, elle continue à ne pas précipiter par les sels de zinc. Par contre, elle devient précipitable par Zn,NO^2 (N = 0,11), si on lui a précédemment ajouté : HCl (N = 0,025) ou NaOH (N = 0,002).

B. Remise en solution. — Les précipités d'albumine dialysée par les sels de métaux lourds *sont entièrement remis en suspension*, si on ajoute au milieu des solutions d'électrolytes dilués. Pour obtenir ce résultat, il faut une très petite quantité d'acide, une plus grande quantité de base, une beaucoup plus grande quantité de sels. Par exemple, le précipité d'albumine dialysée par l'azotate de zinc est redissous si la liqueur devient :

N/160 HCl, N/140 NaOH, N/30 NaCl.

Ces complexes redissous dans les solutions d'électrolytes dilués ont des propriétés très particulières.

1° Après redissolution, la nouvelle solution donne un précipité par dilution ou dialyse;

2° Elle est coagulable par la chaleur. La température de coagulation varie suivant la nature de l'électrolyte employé pour faciliter la redissolution.

Par exemple, un même complexe albumine-sel de zinc coagule, s'il a été redissous par :

(HCl à 56°, NaCl à 60°, KOH à 86°.)

Si à une solution faite, grâce à la présence d'un sel, on ajoute une petite quantité d'acide, on abaisse la température de coagulation; si on ajoute une petite quantité de base, on l'élève.

V. — Conséquences qu'on peut tirer de la connaissance du signe électrique des colloïdes (avec G. Schaeffer et E.-F. Terroine) (95)

1° Influence de la réaction du milieu sur la grandeur des granules colloïdaux. — La précipitation des solutions colloïdales dépend de la réaction du milieu (Linder et Picton). L'examen de cette précipitation par toute une série de méthodes (examen de la stabilité; étude de l'effet Tyndall, examen ultramicroscopique, etc.), montre qu'elle n'est que l'aboutissement d'un processus continu marqué d'abord par l'apparition puis par l'augmentation des granules submicroscopiques.

Dès lors, dans un grand nombre de cas, étant donné le signe électrique d'un corps à l'état de suspension ultramicroscopique, on peut prévoir quelle réaction il faut donner au milieu pour rapprocher ce corps soit de l'état dissous, soit de l'état insoluble.

Colloïdes inorganiques. — Nous avons vérifié ce fait pour des colloïdes inorganiques comme les métaux préparés par la méthode de Bredig, le trisulfure d'arsenic, l'hydrate de fer colloïdal.

Colloïdes organiques. — Un grand nombre de composés organiques sont, dans l'eau, à l'état de suspension contenant, soit presque exclusivement des granules colloïdaux (amidon, albumine), soit un mélange de molécules en solution vraie et de granules (savons, certaines matières colorantes), soit des granules et des particules microscopiques (certains autres savons, beaucoup de matières colorantes). Ces dernières suspensions présentent d'ailleurs souvent les propriétés de solutions colloïdales véritables (transport électrique, précipitabilité, etc.).

Un très grand nombre de ces solutions colloïdales présentent le phénomène que nous signalons.

Savons. — Les savons, qui présentent les caractères des solutions colloïdales négatives, se troublent et précipitent par addition d'acide, s'éclaircissent par addition d'alcali. A l'ultramicroscope, ces solutions, dialysées ou non, présentent un grand nombre de grains submicroscopiques vibrants qui deviennent microscopiques par addition d'acide et amicroniques quand on alcalinise.

Matières colorantes, indicateurs. — Les mêmes phénomènes d'apparition ou de disparition des granules s'observent sur un grand nombre de matières colorantes, qu'elles constituent des suspensions composées seulement de granules (bleu de toluidine, rose de Magdala positifs; granules disparaissant par l'acide, apparaissant si l'on alcalinise) ou de granules et de particules microscopiques (bleu d'aniline saturé à froid, négatif; granules et particules disparaissant sous l'action de l'alcali). De même, dans certains indicateurs colloïdaux, les granules apparaissent ou disparaissent au moment du virage (rouge Congo, positif devenant bleu en même temps que les grains disparaissent, par addition d'acide; suspension de phtaléine, négative, devenant rouge et limpide sous l'action des alcalis).

Alcaloïdes. — Un grand nombre d'alcaloïdes, comme le sulfate de quinine, mis en suspension ultramicroscopique dans l'eau, présentent des phénomènes analogues.

Amidon. Albumine. — Les empois d'amidon dilués, et les solutions de sérum et d'ovalbumine dialysées, négatifs, deviennent limpides par addition d'alcali, opalescents par addition d'acide. L'ultramicroscope permet d'y suivre la disparition des granules submicroscopiques en alcalinisant, leur apparition en acidifiant.

Emulsions, suspensions, troubles. — Enfin, nous avons observé le même fait en opérant sur des émulsions de lécithine, des suspensions ultramicroscopiques de mastics, d'essences, etc.

VI. — **Caractères colloïdaux dans la série des savons** (avec G. Schaeffer et Terroine) (104-105)

L'étude des savons d'acides gras saturés, considérée à la lumière des recherches sur les colloïdes, présente un triple intérêt; d'abord on peut comprendre ainsi, comme l'a indiqué Krafft dans ses importants mémoires, beaucoup des propriétés physiques et chimiques des savons qui paraissent autrement des aberrations inexplicables. De plus, on possède en eux une même série de corps à poids moléculaire constamment croissant qui permet d'étudier le passage de l'état cristalloïde à l'état colloïdal; enfin ces corps présentent presque tous les exemples de structures ultramicroscopiques et permettent de rechercher les conditions de formation de ces structures.

Caractères colloïdaux dans la série des savons. — Si l'on recherche les caractères colloïdaux dans la série des savons sous différentes conditions de température, de concentration, de réaction du milieu ou sous l'action de différents solvants, on constate que les acétates, propionates, butyrates, valérianates, même en solutions saturées à 18°, ne diffusent pas la lumière, ne présentent pas de grains à l'ultramicroscope et traversent les membranes de collodion; le caproate de soude N/10 diffuse peu la lumière et présente des grains ultramicroscopiques; la solution normale présente de très nombreux grains; le caprylate N/10 est trouble, il présente des grains et des particules submicroscopiques miroitantes. Il en est de même du laurate, du palmitate et du stéarate en solutions saturées. Ces derniers corps s'hydrolysent totalement par dialyse prolongée.

Pour un même savon, le caractère colloïdal est d'autant plus marqué qu'on passe de la solution alcaline à la solution neutre et de cette dernière à la solution acide.

Placés dans un champ électrique, tous les savons en solutions aqueuses sont négatifs. Même les termes inférieurs de la série donnent avec les sels de métaux lourds des combinaisons d'absorption et avec les colloïdes positifs organiques et inorganiques des complexes colloïdaux.

On peut s'expliquer l'apparition du caractère colloïdal dans la série des savons si l'on considère qu'ils sont hydrolysés en solutions aqueuses, qu'ils participent par là même des propriétés des acides gras, et que la série de ces acides présente toutes les formes possibles de liaison avec l'eau; à la température ordinaire, les termes inférieurs sont liquides, ils sont miscibles avec l'eau: leurs savons sont en solutions vraies. Les termes moyens sont liquides et incomplètement miscibles avec l'eau, ils donnent des solutions diphasiques et, moyennant certaines précautions, des « troubles » à gouttelettes négatives : La grandeur de ces gouttelettes augmente si l'on ajoute un acide ; si l'on ajoute une base, des gouttelettes diminuent sans jamais disparaître; puis on voit se former une suspension ultramicroscopique de savons. Les termes supérieurs sont solides, de moins en moins solubles; ils présentent des granules ultramicroscopiques ou microscopiques ; ils sont précipités par l'addition d'acides forts, par l'addition d'alcalis, ils donnent des suspensions ultramicroscopiques ; c'est là la formation des savons supérieurs.

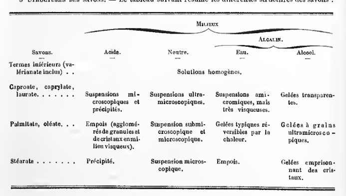
2° Passage de l'état de solution a l'état de solution colloïdale. — Lorsqu'on déplace par un acide fort l'acide gras d'un savon, on manifeste de plus en plus les propriétés de l'acide gras ; les termes supérieurs passent de l'état de suspensions à l'état d'agglomérés, les termes moyens de l'état de solutions vraies à l'état de suspensions ultramicroscopiques et de précipités, les termes inférieurs ne présentent aucune modification apparente. Nous avons étudié les variations des constantes physiques (indice de réfraction, pouvoir rotatoire, coefficient d'absorption, etc...) au

cours de ces passages. Nous avons observé des variations importantes surtout pour la tension superficielle et la viscosité.

Tension superficielle. — On sait que, en solutions aqueuses, les acides gras diminuent plus la tension superficielle que les savons. Pour les savons, cette diminution est d'autant plus grande qu'on déplace davantage l'acide gras par un acide fort, ou que le savon est plus hydrolysé.

Viscosité. — Pour les termes inférieurs, jusqu'au valérianate N/10, l'addition d'un acide fort à la solution fait peu varier la viscosité ; l'addition d'une base forte l'augmente. Pour le valérianate N, l'addition d'acide diminue la viscosité, l'addition de base l'augmente. A partir du caproate, c'est-à-dire à partir du moment où l'on a, en solution neutre, une suspension ultramicroscopique, l'addition soit d'acide, soit de base *augmente la viscosité*. Le point minimum de la courbe de viscosité est un point critique correspondant précisément au moment *où la solution commence à présenter des granules ultramicroscopiques*. Pour les termes supérieurs au caproate, ce minimum, ce point critique, existent toujours, mais ils ne correspondent plus à la neutralité ; ils répondent à une alcalinité d'autant plus forte que l'acide gras du savon a un poids moléculaire plus élevé. L'existence de ce point critique permet de séparer dans la série les termes qui ne peuvent se trouver en solution ultramicroscopique (valérianate inclus) de ceux qui sont colloïdaux.

3° Structures des savons. — Le tableau suivant résume les différentes structures des savons :



	Milieux			
			Alcalin.	
Savons.	Acide.	Neutre.	Eau.	Alcool.
Termes inférieurs (valérianate inclus) . .	Solutions homogènes.			
Caproate, caprylate, laurate.	Suspensions microscopiques et précipités.	Suspensions ultramicroscopiques.	Suspensions amicromiques, mais très visqueuses.	Gelées transparentes.
Palmitate, oléate. . .	Empois (agglomérés de granules et de cristaux enmi-lien visqueux).	Suspension submicroscopique et microscopique.	Gelées typiques réversibles par la chaleur.	Gelées à grains ultramicroscopiques.
Stéarate	Précipité.	Suspension microscopique.	Empois.	Gelées emprisonnant des cristaux.

On voit, d'après ce tableau, que la structure des savons (solutions vraies, solutions colloïdales, gelées, empois), est sous la dépendance de la complexité moléculaire et de la réaction du milieu.

VII. — **Action des colloïdes les uns sur les autres** (avec Henri, Lalou et Stodel) (23, 24, 25, 26)

A. Colloïdes de même signe. — On avait établi (Lobry de Bruyn, Lottermoser, etc)

que quand on mélange deux colloïdes de même signe, il se forme un complexe aussi difficilement précipitable par les électrolytes que le colloïde le plus stable. Recherchant comment s'établissait la stabilité du complexe, nous avons reconnu que cette stabilité augmente d'abord plus lentement que la quantité de colloïde stable qui entre dans la composition du complexe ; mais à partir d'une certaine limite, cette stabilité devient très grande, comparable à celle du colloïde stable. En outre, la quantité de colloïde stable qu'il faut ajouter à un colloïde instable pour obtenir un complexe stable, augmente avec la quantité du colloïde instable.

B. Complexes de deux colloïdes de signes électriques opposés. — Linder et Picton avaient montré qu'un colloïde peut être précipité de son solvant par l'addition d'un colloïde de signe opposé.

Lorsque à un colloïde positif on ajoute des qusntités croissantes de colloïde négatif, il se forme un complexe. En effet, lorsqu'une précipitation se produit, les deux colloïdes précipitent ensemble.

1° Un colloïde positif instable peut être précipité par l'addition d'une quantité bien déterminée de colloïde négatif, et réciproquement. Les deux colloïdes précipitent ensemble.

Exemple :

2 cm³ Ag. coll.	+	1 goutte hydrate ferrique,	sol. A.		Aucun changement apparent.
2 —	—	+ 3 gouttes	—	—	Précipité granuleux.
2 —	—	+ 5 —	—	—	Changement de teinte, pas de précipité.
2 —	—	+ 10 —	—	—	Changement de teinte, pas de précipité.

On voit que le précipité se produit par l'addition de trois gouttes, mais si l'on dépasse cette quantité, il n'y a plus de précipitation ; *il existe donc un certain point critique pour le mélange de deux colloïdes de signe opposé* ;

2° Si à un colloïde instable on ajoute des quantités croissantes d'un colloïde de signe opposé et que l'on mesure la précipitabilité du mélange par les sels, on trouve que la stabilité du complexe diminue d'abord, puis passe par un minimum et augmente ensuite.

Exemples :

2 cm³	Hydrate ferrique	+ 0 goutte amidon		précipitent	par 34 gr. NaNO³,	10 p. 100.	
2 —	—	+ 1 goutte amidon 1 p. 100		—	30 gr.	—	—
2 —	—	+ 3 gouttes amid.	—	—	20 gr.	—	—
2 —	—	+ 5	—	—	15 gr.	—	—
2 —	—	+ 10	—	—	10 gr.	—	—
2 —	—	+ 30	—	—	impossible à précipiter par NaNO³.		

Le minimum correspond au point critique précédemment signalé.

3° Le complexe en deçà du minimum possède des propriétés différentes de celles qu'il manifeste au delà du minimum. Ainsi, si c'est le colloïde positif qui prédomine, le complexe est précipitable par les ions acides ; si c'est le négatif qui prédomine, il est précipitable par les ions métalliques.

Voici quelques exemples :

2	cm^3	Ag. Coll.	+ 0 goutte	hydrate de fer	précipitée par	10 gr.	Na^2SO^4 1 p. 100,
2	—	—	+ 1 —	—	—	3 gr.	— —
2	—	—	+ 2 gouttes	—	—	2 gr.	— —
2	—	—	+ 5 —	—	—	1 gr.	— —
2	—	—	+ 0 goutte	—	—	5 gr.	$Zn(NO_3)_2$ à 2 p. 1 000
2	—	—	+ 2 gouttes	—	—	15 gr.	— à 30 p. 100
2	—	—	+ 5 —	—	—	impossible à précipiter.	

Donc, à mesure que l'on ajoute de l'hydrate ferrique à de l'argent colloïdal, la précipitabilité par le sulfate de Na augmente, et la précipitabilité par l'azotate de Zn diminue ;

4° Ces propriétés différentes des complexes, suivant qu'on les considère d'un côté ou de l'autre du minimum, peuvent encore se manifester en ce qui concerne la façon dont ils se comportent dans un champ électrique. D'une façon générale, le complexe se transporte tout entier dans le même sens que le colloïde prédominant.

Ainsi la précipitation d'un colloïde positif par un colloïde négatif est un phénomène réversible ; et le complexe formé a les propriétés du colloïde prédominant.

Les faits que nous venons d'exposer ont été vérifiés par un grand nombre d'auteurs, notamment par Bilz, Neisser et Friedmann, Michaelis, etc.

Nous devons ajouter que si l'étude des colloïdes a pris depuis vingt ans un développement considérable, si elle a donné naissance à de très nombreuses recherches théoriques et à des travaux poussés dans tous les ordres de la technologie, en 1903, lorsque nous avons abordé cette question, ce mouvement était tout à fait à ses débuts. Limité à des recherches physico-chimiques d'ailleurs fondamentales, il n'avait que très peu attiré l'attention et on ne semblait pas prévoir son importance. Quant à nous, nous en avions tout de suite saisi la portée. Dans un travail d'ensemble — le premier à notre connaissance — publié en 1904 avec V. Henri, à la suite de nos premières recherches, nous essayions de systématiser les résultats déjà acquis, d'attirer sur eux l'intérêt des expérimentateurs; nous indiquions en quoi ils nous paraissaient ouvrir un chapitre fondamental des études biologiques. Nous croyons avoir ainsi contribué à la création du mouvement de recherches sur les colloïdes, et c'est probablement pour cela que les directeurs de périodiques étrangers consacrés à ces études nous ont fait l'honneur de nous demander de faire partie de leurs comités de rédaction.

RECHERCHES SUR LES COMPLEXES COLLOÏDAUX D'ALBUMINOÏDES, D'ALBUMINOÏDES ET DE LIPOÏDES

I. — **Complexes acidalbumine-albumine** (70, 118)

Lorsque, au moyen d'un acide inorganique, on forme une albumine acide et qu'on en ajoute une petite quantité à de l'ovalbumine, on constate que pour une certaine proportion il se produit un « trouble », puis un précipité qui va en augmentant à mesure qu'on augmente la concentration en albumine acide. Ce précipité passe par un maximum, puis diminue ; pour une concentration plus grande en acidalbumine, on ne constate plus qu'un louche, puis un bleu Tyndall ; et enfin, pour une constatation plus grande encore, le mélange redevient limpide.

Les précipités formés se redissolvent quand on ajoute à la liqueur surnageante des solutions d'acides, de bases ou de sels.

On peut donc former des complexes colloïdaux acidalbumine-albumine; c'est là le type d'un grand nombre de complexes colloïdaux qui se rencontrent constamment en chimie biologique. Ayant mis en évidence ce phénomène, j'en ai montré ensuite la généralité.

Acidalbumines d'acides gras. — Ce ne sont pas seulement les acidalbumines formées au dépens d'acides inorganiques, mais aussi celles qu'on forme au moyen des acides gras qui présentent le pouvoir précipitant. Nous avons montré avec G. Schaeffer que les albumines acidiliées par les acides gras saturés sont d'autant plus précipitantes que l'acide qui les a formés est d'un poids moléculaire plus élevé, si toutefois il ne les précipite pas trop elles-mêmes au moment de leur formation. Plus la solution d'albumine qui servira à faire l'acidalbumine est pauvre en sels, plus on pourra s'élever dans la série des acides gras pour former l'acidalbumine précipitante. Par exemple, l'albumine dialysée peut être additionnée d'acide caprylique sans précipiter immédiatement. Cette acidalbumine caprylique est la plus précipitante de la série.

Action du chauffage. — Le chauffage des acidalbumines renforce considérablement leur pouvoir précipitant pour l'albumine. Ce phénomène est vrai, aussi bien pour les acidalbumines d'acides inorganiques que pour les acidalbumines d'acides gras.

II. — **Complexes alcali-albumines-albumine** (118)

Les alcali-albumines de bases fortes sont des précipitants pour l'albumine ordinaire et

forment avec elle des complexes colloïdaux qui ont les mêmes caractères que ceux qu'on obtient en ajoutant à l'albumine des acidalbumines. Les alcali-albumines de monodi et triamines (méthyl, éthyl, butyl jusqu'à l'heptylamine), se comportent à ce point de vue comme les alcali-albumines de bases fortes.

Le chauffage des alcali-albumines a pour effet de renforcer leur pouvoir précipitant.

Les complexes alcali-albumine-albumine sont solubles dans les solutions de bases à faible concentration ; dans les solutions d'acides minéraux à concentration plus forte (plus de vingt fois plus fortes) ; et partiellement solubles dans les solutions de sels neutres ; plus solubles dans les solutions de bases bivalentes que dans les solutions de bases monovalentes.

III. — Complexes colloïdaux pouvant se produire dans les conditions biologiques (57, 71)

J'ai donné une série d'exemples de complexes qui peuvent se former dans les conditions biologiques. Par exemple, le suc gastrique de porc précipite l'ovalbumine. Ce précipité est soluble dans un excès de l'un ou de l'autre des corps réagissants, soluble dans les solutions d'électrolytes diluées.

La *mucine* et l'*ovalbumine* forment un complexe insoluble dans l'eau, soluble dans un excès de l'un ou l'autre composant. Le complexe formé, coagulable par la chaleur, contient de l'albumine et de la mucine. Il est soluble dans les solutions d'électrolytes dilués.

La mucine forme avec le suc gastrique du porc un complexe soluble dans les bases, moins soluble dans les acides et moins encore dans les sels neutres.

IV. — Complexes colloïdaux de protéiques (72, 73, 75, 76)

La caséine forme avec l'ovalbumine un complexe insoluble dans l'eau, soluble dans l'un ou l'autre de ses constituants, coagulable par la chaleur. Le complexe est entièrement soluble dans une solution de base de faible concentration, d'acide minéral de concentration plus forte, de sel alcalin de concentration plus forte encore. Pour certaines concentrations en caséine, il est partiellement soluble dans les solutions de sel neutre et plus dans les solutions de bases bivalentes que dans celles de bases monovalentes.

De même, les nucléo-albumines forment avec l'ovalbumine un complexe ayant les mêmes caractères.

L'acide nucléinique forme avec l'ovalbumine un complexe soluble dans un excès, soit d'acide nucléinique, soit d'ovalbumine. Exemple (tous les volumes sont ramenés à 3 cm^3 par H^2O) :

Solution d'albumine de conductivité 116. 10^{-6} : 2 cm^3.
Solution d'acide nucléinique, de conductivité 136. 10^{-4}.

Acide nucléinique.	1/2 goutte.	1	2	4	6	8	10	18	20
24 heures après . .	Tyndall très clair.	Tyndall.	Louche.	Préc. 2 mm.	Préc. 7 mm.	Préc. 11 mm.	Préc. 5 mm.	Louche.	Tyndall.

Ce complexe est soluble dans les solutions d'électrolytes dilués.

Par exemple HCl 0,1 N ; SO^4H^2 0,25 N (solution bleu Tyndall) ; NaOH, KOH, 0,0005 N

(solution claire); chlorures, azotates et sulfates de soude, potasse, ammoniaque, magnésie entre 0,25 et 0,40 N.

V. — Complexes colloïdaux d'albuminoïdes et de lipoïdes (avec E. Terroine) (79, 80, 81).

1° COMPLEXES LÉCITHINE-ALBUMINE. — Sous le nom de lécithalbumines, un grand nombre d'auteurs, LIEBERMANN, HOPPE-SEYLER, OSBORNE et CAMPBELL avaient décrit des corps extraits des divers organes, corps contenant des lécithines et des albumines. En examinant de près les propriétés de ces lécithalbumines, nous nous sommes demandé s'il ne s'agissait pas tout simplement de complexes d'albumines et de lécithines.

Nous avons d'abord examiné les caractères des émulsions fines de lécitbine : nous avons constaté, après examen de leur transport électrique et de leurs caractères de précipitabilité, qu'elles se comportent comme un colloïde négatif.

Si à une suspension de ce genre on ajoute de l'albumine légèrement acidifiée, il y a production d'un précipité ; pour certaines proportions, la précipitation est totale. Pour précipiter la lécithine, l'acidité de l'albumine doit être d'autant plus forte qu'il y a plus de sels neutres présents dans la liqueur. Le précipité qui contient l'albumine et la lécithine est soluble dans un excès soit d'albumine, soit de lécitbine.

Le complexe précipité est soluble dans les solutions diluées d'alcalis, de sels neutres de sodium et de potassium (environ N/100); insoluble dans les solutions d'acides ou de sels de bases bivalentes; partiellement solubles dans les solutions plus concentrées (N/20 d'acides.)

Le complexe se redissout dans les sels neutres. Dans un champ électrique, il se transporte vers le pôle négatif. Redissous par les acides ou les bases, il est incoagulable à l'ébullition. Il est précipité partiellement par Mg SO^4, totalement par $(NH^4)\,SO^4$. Il est soluble dans les solvants des graisses par ordre de solubilité croissante ; dans l'éther de pétrole, l'éther sulfurique, l'alcool éthylique, le sulfure de carbone, la benzine, le chloroforme, le xylol. Il est insoluble dans l'acétone. Il a donc tous les caractères des lécitbalbumines.

2° JÉCORINES. — DRECHSEL, BALDI, WALDVOGEL et TINTEMANN, Paul MAYER, MEINHERZ, MANASSE, SIEGFRIED et MARK, etc... ont décrit et analysé des substances extraites du foie, auxquelles ils ont donné le nom de jécorines et qui seraient essentiellement constituées d'albuminoïdes, de lécitbine et de glucose.

Or, si l'on examine les procédés de préparation de ces corps, on voit qu'ils reviennent tous à dissoudre le produit grâce à l'eau, et à le précipiter en diminuant la concentration en eau. La proportion de corps précipité dépend toujours de l'équilibre des solvants. D'autre part, ses propriétés sont précisément celles des émulsions de lécitbines ou de lécitbalbumines naturelles ou artificielles. Les seules propriétés nouvelles sont le pouvoir réducteur et certains caractères de précipitabilité. Enfin les différences de compositions données par les auteurs cadrent mal avec l'idée défendue par eux que la jécorine est un corps chimiquement défini.

Nous nous sommes demandé si la jécorine n'est pas formée par l'expérimentateur au moment même de la préparation et 1° si la précipitabilité des jécorines ne dépend pas uniquement de la précipitabilité du glucose en solution éthérée ou alcoolique ; 2° si les pro-

priétés qui différencient la jécorine de la lécithalbulmine ne sont pas dues uniquement à la présence de glucose ; et 3° si la composition de la jécorine n'est pas variable.

Pour répondre à ces questions, nous avons montré qu'on peut former soit dans l'eau, soit dans l'alcool des complexes ayant toutes les propriétés des jécorines naturelles. Si l'on compare la précipitation et la redissolution des solutions hydro-alcooliques, ou hydro-éthérées de glucose avec celles des jécorines placées dans les mêmes solvants, on voit qu'il y a un parallélisme complet entre les deux cas. C'est donc bien à la présence de glucose que les jécorines artificielles doivent leurs propriétés spéciales.

Enfin, la composition des jécorines artificielles est variable. Elle dépend des conditions de leur formation et, en particulier, de la concentration des éléments qui entrent dans leur constitution.

VI

ÉTUDES ULTRAMICROSCOPIQUES SUR LES CONSTITUANTS DU PROTOPLASMA. CONSTITUTION PHYSICO-CHIMIQUE DU PROTOPLASMA ET DES LIQUIDES DE L'ORGANISME

I. — États optiques des colloïdes organiques (89, 90, 91, 93, 101, 102)

HYDROSOLS, GELÉES, HYDROGELS. — 1° On sait (SIEDENTOPF et ZSIGMONDY, etc...) que lorsqu'on examine à l'ultramicroscope des solutions colloïdales de métaux, sulfures, etc..., on aperçoit, sur un fond noir, un très grand nombre de points brillants présentant de vifs mouvements browniens, qui sont, sans doute, les granules de la solution rendus visibles. Si la solution est concentrée, les points brillants sont innombrables. C'est, par exemple, l'aspect des solutions d'Au, Pt, Ag, Pd, Vd, Mn, Cu, As^2S^3, etc...

2° Or, si l'on examine dans les mêmes conditions une gelée, un gel, l'apparence est toute différente. Lorsqu'on examine la gélatine bien pure dialysée, l'agar, liquéfiées par la chaleur ou prises en gelées, sur un fond presque uniformément noir n'apparaissent que de très rares points brillants en mouvement. Les gelées organiques sont donc optiquement homogènes, par opposition aux hydrosols, optiquement inhomogènes. Cette différence est très nette et très importante.

Quel est l'état optique des colloïdes organiques ? Un certain nombre d'auteurs qui avaient examiné à l'ultramicroscope des colloïdes organiques mis en suspension dans l'eau : le glycogène (GATIN-GRUZEWSKA et BILZ), l'albumine, les diastases en préparation commerciale (RAEHLMANN, CESANA, AGAZZOTTI), ont trouvé qu'ils présentent l'aspect des hydrosols.

A mon sens, cet aspect ne préjuge pas de l'état où se trouvent normalement ces colloïdes dans leur milieu naturel. En effet, si ces colloïdes sont à l'état de gel, toute action qui a pour effet d'y produire un précipité ou une coagulation y fait apparaître des granulations. J'ai étudié à ce point de vue toute une série de phénomènes.

A. FORMATION D'HYDROSOLS AUX DÉPENS D'HYDROGELS ORGANIQUES PAR DIALYSE. — Un certain nombre de colloïdes organiques, qui ne sont pas normalement pris en gelée, se rapprochent tout à fait des gels par leur aspect optique. Par exemple, le blanc d'œuf naturel, examiné à l'ultramicroscope présente un aspect tout à fait analogue à celui de la gélatine ou de l'agar. Il est à l'état d'hydrogel liquéfié, optiquement presque homogène. Si l'on dilue le blanc d'œuf avec de l'eau contenant des sels en solution (de façon, comme on dit, à « ne pas précipiter les globulines »), il conserve le même état.

Il n'en est pas de même si on dilue le blanc d'œuf avec de l'eau distillée (de façon,

comme on dit, à « séparer les globulines de l'albumine »). On assiste alors aux phénomènes suivants :

1° Stade du fond noir (stade de l'hydrogel). — C'est l'aspect précédemment décrit. Fond uniformément noir, avec quelques rares points brillants, animés de mouvements browniens, mais entraînés tous avec le liquide, quand on y provoque des courants.

2° Stade des nébuleuses non résolubles. — Sur ce fond noir apparaissent de vagues lueurs, puis des traînées lumineuses qui vont se précisant, sans qu'on puisse d'abord, si fort que soit l'éclairage, les résoudre en points brillants. Elles sont entraînées en masse par les courants du liquide.

3° Stade des granulins et des granules. — Dans ces traînées naissent bientôt de tous petits points brillants, scintillants ; puis ils semblent augmenter de nombre, grossir, devenir de plus en plus nets, et finalement toute la traînée se résout en granulins et en granules, nettement séparés les uns des autres, chacun d'eux vibrant indépendamment. C'est l'aspect d'un hydrosol.

A ce moment, macroscopiquement, la solution est opalescente; c'est le commencement de la « séparation des globulines ». Si l'on pousse plus loin la dilution, on aboutit à leur précipitation. Cela correspond à l'ultramicroscope, aux aspects suivants :

4° Stade des granules doubles, triples et des chaînettes. — Deux, trois granules de l'hydrosol se réunissent en files, parfois se forment des chaînettes (j'en ai compté de 7 granules). Ces granules agglomérés vibrent ensemble. Lorsque la chaînette est longue (5, 6 grains), les mouvements sont beaucoup moins vifs.

Si l'on ajoute à la préparation une trace de sels dissous, elle peut persister dans cet état pendant très longtemps ; sinon elle passe au stade suivant : « précipitation de globulines ; séparation de l'albumine ».

5° Stade des amas et des nébuleuses résolubles. — Les granules accolés se réunissent en petits amas de 7, 8, 10 granules. Ces amas ne présentent plus que de très faibles mouvements. Bientôt, ils cessent de vibrer ; ils s'arrêtent ou s'agrègent à d'autres amas pour former de grandes nébuleuses nettement résolubles en grains agglomérés. Dans la préparation subsistent de nombreux granules vibrants.

Si, à ce moment, on filtre les globulines précipitées, il reste la solution d'albumine; c'est l'hydrosol d'albumine. Les phénomènes que nous venons de décrire sont entièrement réversibles. En faisant arriver dans la préparation au cinquième stade de l'eau salée concentrée, on voit les amas de granules se désagréger, les chaînettes se reformer, les granules se remettre en mouvement, devenir de moins en moins nombreux, de plus en plus petits. Bientôt dans la liqueur ne nagent plus que de rares granules scintillants qui, sans former de nébuleuses, se fondent, disparaissent. On n'a plus alors que le fond noir.

II. — Études ultramicroscopiques sur la précipitation des colloïdes (90)

I. Précipitation des colloïdes inorganiques. — Lorqu'on examine à l'ultramicroscope, la précipitation par les électrolytes des colloïdes inorganiques, on peut rencontrer trois aspects principaux :

1° **Précipitation en granules isolés.** — (Exemple : précipitation de l'Ag Bredig par un acide.) Dans le champ du microscope, on voit d'innombrables granules isolés, indépendants, vibrants.

Si l'on fait arriver lentement dans le champ la solution d'électrolyte précipitant, on peut suivre la marche du courant à ce que, dès qu'il arrive en un point, chaque granule, isolément, cesse de vibrer, s'arrête, se précipite; à un moment, on a ainsi dans le champ une petite surface contenant des granules immobilisés; sur tout le pourtour de cette région aux grains immobiles, les granules sont frappés à leur tour d'immobilité, et ainsi de proche en proche la précipitation gagne le champ entier. Le précipité a la forme d'un piqueté de points lumineux qui ne se touchent pas. Macroscopiquement, c'est un précipité en grains fins.

2° **Précipitation en amas.** — (Exemple; précipitation de certains sulfures d'arsenic par une base.) Au contact de l'agent précipitant, on voit plusieurs granules se réunir en amas et cesser de vibrer. Le précipité a la forme de groupes de petites nébuleuses résolubles en gros grains. Macroscopiquement, c'est un précipité à gros grains.

3° **Précipitation en nébuleuses.** — (Exemple; précipitation de l'hydrate ferrique par une base). Sous l'action de l'agent précipitant, dans la préparation apparaissent des lueurs, bientôt précisées en nébuleuses de contour de plus en plus net; ces nébuleuses englobent un certain nombre de granules auparavant vibrant dans la préparation; bientôt elles se résolvent elles-mêmes en granulins très fins; ces granulins ne vibrent jamais; dès que la nébuleuse est ainsi constituée, elle se précipite. Le précipité a l'aspect de grandes traînées lumineuses résolubles en granulins. Macroscopiquement, c'est un précipité en grumeaux.

II. Précipitation des colloïdes organiques. — 1° *Précipitation des hydrosols; précipitation en amas.* Les hydrosols — d'albumine, par exemple — ne précipitent jamais en grains isolés.

Si on examine la précipitation par un sel de Zn, d'un hydrosol d'albumine dialysée, puis légèrement acidifiée, ses aspects rappellent tout à fait ceux de la précipitation en amas décrite plus haut. Si l'agent précipitant est peu concentré, les granules qui vibrent isolément se rapprochent; on voit des granules doubles, triples, des chaînettes; ils cessent de vibrer, se réunissant en amas entraînés par les courants; ceux-ci s'agglomèrent en grandes nébuleuses résolubles en gros grains. Si la solution précipitante est concentrée, on a d'emblée ce dernier stade.

2° **Précipitation des hydrogels, précipitation en nébuleuses.** — Si on mélange sous le microscope une goutte de blanc d'œuf dilué dans l'eau salée et une goutte de solution de sel de zinc par exemple, on assiste aux phénomènes suivants :

Sur le fond noir apparaissent de très petites nébuleuses non résolubles; elles englobent les quelques grains vibrants auparavant visibles; dans ces nébuleuses paraissent très vite des granulins et des granules scintillants. Si la solution précipitante est concentrée, ces nébuleuses demeurent à ce stade; d'autres apparaissent; elles s'accolent; tout le champ du microscope est envahi et le fond noir est remplacé par un fond lumineux, résoluble, avec de très forts éclairages, en très fins granulins. Si la solution précipitante est peu concentrée, les petites nébuleuses apparaissent; en elles naissent les granulins, puis les granules; ces granules s'accroissent et la nébuleuse primitive est peu à peu transformée en un amas de gros granules, cependant qu'autour d'elle apparaissent de nouvelles petites nébuleuses non résolubles, qui s'accolent à l'amas et suivent la même évolution. Quand l'évolution est achevée, on a un fond lumineux composé d'amas, entourés de nébuleuses à grains fins, réunies entre elles par des traînées lumineuses non résolubles.

III. — Études ultramicroscopiques sur la coagulation des colloïdes organiques par la chaleur (90)

1° Coagulation des hydrosols; coagulation en amas. — Si on chauffe au bain-marie l'hydrosol d'albumine dialysée puis salée, et qu'on l'examine après des durées de chauffage de plus en plus longues, on voit les granules s'accoler; puis se forment des chaînettes, des amas, et enfin de grandes nébuleuses résolubles. Macroscopiquement, c'est une coagulation granuleuse.

2° Coagulation des hydrogels. — Si on chauffe au bain-marie un hydrogel, par exemple le blanc d'œuf, on sait que se produisent les phénomènes suivants : 1° avant tout changement visible, l'augmentation de viscosité de la liqueur, phénomène que j'ai décrit en 1902 et qui a été depuis étudié en détail par Rossi, Cervello et Pitini, Starke, Cesana, qui l'a étudié à l'ultramicroscope; 2° le phénomène optique de Tyndall : l'apparition de la teinte bleue; 3° l'apparition de l'opalescence. A ce moment, trois cas peuvent se présenter : *a*) l'hydrogel est pur et dilué; alors, même si on fait durer longtemps le chauffage, il ne coagule pas; *b*) il est concentré; en chauffant davantage, il coagule en masse; *c*) il est dilué et salé; par chauffage, il donne des grumeaux coagulés; dans le cas du sérum ou de l'ovalbumine, on dit que « les globulines coagulent » et abandonnent l'albumine.

A l'ultramicroscope, ces phénomènes correspondent aux aspects suivants :

1° Comme l'a vu Cesana, « le fond augmente la luminosité ». C'est-à-dire que sur le fond noir apparaissent des lueurs, puis des nébuleuses non résolubles. C'est au début de ce phénomène que correspond l'augmentation de viscosité.

2° Ces nébuleuses se résolvent en fins granulins et granules (stade correspondant au phénomène de Tyndall). C'est un passage particulier et irréversible d'un hydrogel à un hydrosol.

3° Ces granules deviennent complètement indépendants les uns des autres et le champ est rempli d'innombrables granules vibrant isolément (stade correspondant à l'opalescence). Si l'on pousse plus loin le chauffage et qu'on examine l'hydrogel dans les trois cas signalés plus haut : *a*) dans le premier cas, les granules continuent à vibrer isolément; *b*) dans le deuxième cas, les traînées lumineuses envahissent tout le champ, englobent les amas, et le fond n'est plus que lumineux; résoluble par places en gros grains, par places en granulins fins, sans plus qu'aucun d'eux vibre isolément; *c*) dans le troisième cas, ils grossissent, se réunissent en amas; entre eux naissent des traînées lumineuses qui les englobent et on a ainsi des grandes nébuleuses, demi-résolubles en granulins d'une finesse extrême. Entre elles, un grand nombre de granules continuent à vibrer isolément : c'est l'hydrosol d'albumine séparé des globulines.

IV. — Études ultramicroscopiques sur les empois d'amidon et leurs constituants (avec G. Schaeffer et Z. Gruzewska) (102)

Raehlmann, Agazzotti avaient étudié la structure de certains empois d'amidon. Nous avons montré que cette structure est variable suivant la nature de l'amidon, sa concentration, sa température de préparation. Les constituants de l'empois se trouvent plus ou moins solubilisés. Ils peuvent être entièrement homogénéisés pour une concentration faible. Les empois sont constitués d'une substance formant un gel optiquement homogène

comme sont les solutions d'amylopectine dans laquelle est engluée une suspension ultramicroscopique de granules analogues à ceux des solutions d'amylose.

L'amylopectine et l'amylose, préparées par le procédé de Maquenne à partir de la fécule de pomme de terre crue, sont des colloïdes typiques. L'amylopectine est un gel, l'amylose un sol.

V. — Etudes ultramicroscopiques sur le plasma sanguin et sa coagulation (91, 93)

A. Plasma sanguin. — Si on recueille le sang sans précaution, qu'on centrifuge dans des vases non paraffinés, on constate souvent la présence d'un assez grand nombre de grains et même de plus grandes particules vibrantes. Ces granules sont dus soit à la destruction des éléments figurés, soit à un début de coagulation.

Pour éviter ces causes d'erreur, il faut recueillir soigneusement le sang, au moyen de tubes paraffinés, dans des vases paraffinés contenant du fluorure de sodium en solution saturée, puis centrifuger rapidement, et étudier aussitôt la couche supérieure du plasma surnageant. Dans ces conditions, lorsqu'on examine à l'aide d'ultramicroscopes à réfraction totale les plasmas de cheval, de chien, de lapin, on ne constate qu'un fond absolument noir, presque sans granules vibrants. *Le plasma pur est donc un gel.*

Précipitation par les acides et les sels de métaux lourds. — Si l'on ajoute au plasma des traces d'acide, par exemple, de manière à ce qu'il devienne 0,002 N H^2SO^4, dix minutes après on y voit naître un grand nombre de granulins à peine visibles. Si la concentration est plus forte (0,02 N), il apparaît de nombreux granules submicroscopiques; beaucoup d'entre eux s'accolent en chaînettes de deux, trois, cinq ou six granules. Pour une concentration 0,04 N, les granules s'accolent en amas, résolubles en granules submicroscopiques, et les amas précipitent. Des phénomènes analogues se produisent lorsqu'on ajoute au plasma des sels de métaux lourds.

Action des sels neutres sur le plasma. Naissance des globulines. — Lorsqu'on examine microscopiquement comment se fait la précipitation des « globulines » par les sels neutres dans le plasma, par exemple par $(NH^4)^2SO^4$ saturé, on constate : 1° que le premier précipité a l'air formé de fibres caractéristiques (fibrinogène) : c'est une précipitation *filamenteuse* ; lorsqu'on filtre le plasma débarrassé du fibrogène et que l'on continue l'addition de $(NH^4)^2SO^4$, il se fait un précipité de « globulines » ; le précipité est formé de gros grumeaux ; c'est une précipitation *grumeleuse* ; si on filtre encore et qu'on ajoute encore $(NH^4)^2SO^4$, on a un précipité « d'albumine » très fin : c'est une précipitation *granuleuse*. Ces diverses précipitations correspondent à des aspects ultramicroscopiques très différents les uns des autres.

1° Si l'on ajoute au plasma une dose très faible de solution saturée à froid de $(NH^4)^2SO^4$ (par exemple une goutte pour 2 cm³), on constate, en prélevant des échantillons à des moments successifs, les phénomènes suivants : 1° après dix minutes, le fond est noir, et même peut être plus noir que celui du plasma primitif; 2° après trente minutes, il est devenu peu à peu lumineux, et on voit un grand nombre de granulins extrêmement fins, presque amicroscopiques et qui n'apparaissent qu'en employant une source lumineuse d'un grand éclat; 3° après une heure, en plus des granulins on voit qu'il est apparu des formations nouvelles dont nous n'avons pas encore eu

d'exemple dans les colloïdes organiques; ce sont de très petites files, très fines, très ténues, vibrantes comme des granulins. On ne peut les confondre avec les chaînettes formées de gros granules bien résolubles, accolés : ce sont de petits traits très minces, vibrants; 4° après deux heures, elles se sont allongées et élargies; quelques-unes d'entre elles sont résolubles en très fins granulins. Souvent on en voit plusieurs accolées de telle manière que l'extrémité de l'une vient s'attacher obliquement en un point de l'autre. Bientôt après, elles deviennent extrêmement nombreuses, s'accolent, s'accrochent, s'imbriquent, et forment des amas qui figurent un réseau extrêmement fin.

Si la dose ajoutée est plus forte (trois gouttes de solution pour 2 centimètres cubes), on voit apparaître non plus des granulins fins, mais des granules submicroscopiques vibrants; non plus des files fines, mais des chaînettes allongées; ces chaînettes forment souvent de longues séries de granulins placés sur un seul rang. Ces séries s'accolent, s'entre-croisent, et forment des réseaux bien plus grossiers que les précédents.

Enfin, avec de fortes doses, on a tout de suite la formation de chaînettes accolées entre elles de façon à former de vraies fibres, reliées par des amas irréguliers, formant une sorte d'éponge très grossière.

2° Si l'on filtre soigneusement le précipité de fibrinogène obtenu et qu'on examine la liqueur, on constate qu'on a de nouveau un gel (fond noir, pas de grains vibrants). Si l'on ajoute une nouvelle dose de sulfate d'ammoniaque à saturation, on voit de nouveau naître des granulins, qui, peu à peu (ou immédiatement pour une dose plus forte), s'agglomèrent en courtes chaînettes et en amas résolubles, mais irréguliers. Jamais on n'y voit apparaître des files caractéristiques décrites plus haut. Les amas grandissent et se précipitent.

3° Si on filtre soigneusement, et qu'on examine la liqueur qui ne contient plus que l'albumine, on constate qu'on a de nouveau un gel; si on ajoute une nouvelle dose de solution de sulfate d'ammoniaque, on fait de nouveau apparaître des granules, mais ces granules s'agglomèrent très peu. Ils forment quelquefois de courtes chaînettes, rarement de petits amas, qui précipitent.

Ainsi, sous l'action des sels neutres apparaissent successivement dans le plasma, des granules dont on peut se débarrasser par précipitation et filtration successives. L'opérateur fait donc naître au fur et à mesure les différentes « globulines ». Les granules qui se forment les premiers ont une tendance caractéristique à s'orienter, à former des files; ceux qui naissent ensuite s'agglomèrent très aisément; les derniers, enfin, s'agglomèrent mal.

B. Coagulation du plasma. — La coagulation du sang et celle du lait étudiées à l'ultramicroscopique forment un tableau trop confus pour qu'on puisse en déterminer avec soin les éléments. Il faut donc chercher à les décomposer.

1° **Action ménagée des sels de calcium.** — A deux centimètres cubes de plasma, on ajoute une goutte de $CaCl^2$ N/10. Pendant les deux premières minutes, le fond reste absolument noir, sans granules visibles. Vers la cinquième minute, le fond est plus lumineux, et il apparaît un très grand nombre de granulins d'une finesse extrême, qui grossissent peu à peu. Dans les minutes suivantes, les granulins s'accolent de façon à former des chaînettes de plus en plus longues et de véritables files à grains successifs, bien visibles. A ce moment, les préparations montrent, coexistant sur un fond un peu lumineux, des files plus ou moins longues. Dans les heures suivantes, on voit les files s'allonger encore, puis s'accoler entre elles, le granule de l'extrémité de l'une s'accole à l'un des granules de l'autre. Elles s'accolent ainsi, s'imbriquent entre elles et finissent par former un réseau extrêmement fin dont les mailles sont formées de files de granules placées l'une à côté de l'autre.

J'ai pu réussir à faire coexister tous ces stades dans une même préparation en déposant l'une à côté de l'autre, sur une lame, une goutte de plasma et une goutte de $CaCl^2$, et en couvrant brusquement avec une longue lamelle, opération qui fusionne les gouttes.

2° **Action massive des sels de calcium.** — Lorsqu'on ajoute au plasma de plus fortes doses de sels de chaux, par exemple, à 2 centimètres cubes de plasma, 6 ou 7 grammes N/10, les phases sont beaucoup moins marquées. Les granules qui apparaissent d'abord sont beaucoup plus gros; les chaînettes plus courtes se réunissent immédiatement en amas, figurent de grandes nébuleuses résolubles en gros grains. Ces amas s'agglomèrent en une masse grumeleuse, formée de granules accolés sans structure. Entre ces deux états, réseaux délicats ou amas indistincts, on peut réaliser tous les intermédiaires, soit en faisant varier la concentration en sel de chaux, soit en soumettant le plasma à des coagulations successives, en filtrant, en faisant coaguler le filtrat; les premières coagulations sont toujours plus massives, les dernières plus délicates.

3° **Constitution des caillots spontanés.** — Lorsqu'on abandonne à lui-même du plasma fluoré, il se forme dans son sein des caillots, souvent extrêmement délicats. Si on prélève un de ces caillots avec précaution et qu'on en examine la structure à l'ultramicroscope, on constate qu'il est constitué par un réseau tout à fait ténu, et absolument analogue à celui que nous venons de décrire (files de granules accolés). Lorsqu'on produit dans le plasma fluoré une coagulation lente par addition ménagée de petites quantités de sérum, on observe les trois stades que l'action ménagée des sels de chaux permet de décomposer.

L'aspect qui correspond à la coagulation normale du sang est celui d'amas de granules agglomérés, allongés, formant donc non des chaînettes, mais des fibres à plusieurs rangs de granules, imbriquées les unes dans les autres et formant une sorte d'éponge, dans les mailles de laquelle est un gel dépourvu de granules vibrants, le sérum.

La coagulation du plasma comporte donc trois stades : 1° apparition de granules ultramicroscopiques; 2° arrangement de ces granules en files de granules accolées; 3° arrangement de ces files en réseaux. Lorsqu'on rend la coagulation plus massive, dans le premier stade apparaissent des amas de granules; dans le second, ces amas s'allongent en fibres; dans le troisième, ces fibres s'imbriquent en éponge.

C. Coagulation du lait. — Indiquons qu'au cours de la coagulation du lait ou du lacto-plasma, ainsi que des solutions de caséine, on peut observer des phénomènes tout à fait analogues.

Ces constatations permettent de préciser les problèmes que pose la coagulation des liquides de l'organisme. On doit les rapprocher des phénomènes observés pour la première fois, par Victor Henri, au cours de la coagulation du latex de caoutchouc. Au cours de ce phénomène, les granules microscopiques du latex s'ordonnent en files, et les files s'accolent en réseau. Il semble donc que ce processus de la coagulation soit d'une très grande généralité.

VI. — Caractères généraux des gels (avec G. Schaeffer) (101)

Nos études ultramicroscopiques nous ont permis de préciser les caractères généraux des gels. Ceux-ci présentent un ensemble de propriétés, qui en font une classe spéciale de colloïdes :

1° Ils ont une forte viscosité; certains d'entre eux (savons) sont d'autant plus visqueux que le gel est plus parfait, plus transparent, c'est-à-dire que les granules colloïdaux visibles

diminuent de grosseur. Cette viscosité est telle que, lorsque des particules (corps étrangers ou granulations du colloïde encore à l'état submicroscopique) sont en suspension dans un gel, leurs mouvements browniens sont toujours très ralentis, ou nuls; 2° Les gels et les hydrogels se transportent en masse dans un champ électrique, en entraînant le liquide intermicellaire; 3° Ils filtrent avec la plus grande difficulté; on sépare difficilement du colloïde le liquide intergranulaire; 4° Quand on les précipite, ils forment des amas grumeleux emprisonnant beaucoup de liquide; 5° Ils présentent tous les caractères des colloïdes stables. Les plus typiques sont des stabilisants (gélatine, gommes, etc.).

Tous ces faits montrent que, dans les gels, les granules colloïdaux, s'ils existent, ont avec leur solvant une forte liaison; qu'on peut les considérer comme imbibés du solvant, de telle sorte qu'ils forment avec lui une masse homogène.

Et, en effet, toute action diminuant la liaison du colloïde et du solvant, celle des déshydratants : alcool, acétone, chaleur pour les hydrogels : celle de l'eau pour les alcoogels (nitrocellulose) fait apparaître dans le gel des granulations ultramicroscopiques d'abord très fines, puis de plus en plus grosses.

Caractères optiques. — Les gels typiques, les gelées vraies : silice, solution alcoolique de savons, collodion pur dans l'alcool-éther, albumine dialysée contre l'eau salée, plasma fluoré, etc., sont absolument dénués de granulations visibles. Mais il existe aussi des gelées dans lesquelles on voit, sur un fond homogène, des granulations ultramicroscopiques ou submicroscopiques (gelées aqueuses de savons).

Tout conduit à penser que les gels sans grains correspondent, pour les colloïdes à forte liaison avec le solvant, à ce que sont les solutions amicroscopiques pour les sols; les gels à grains sont les homologues des sols qui contiennent à la fois des granulations de toutes les grosseurs (couleurs d'aniline, etc...) En effet, les mêmes actions qui rendent un sol amicroscopique rendent une gelée de plus en plus parfaite, de plus en plus homogène. Par exemple, nous avons montré l'action de la réaction du milieu sur la grosseur des granules des sols. Son action sur les gels est analogue. L'alcalinité rend les gels négatifs de plus en plus homogènes; l'acidité y fait naître des grains; sur les gels positifs, l'action s'inverse. On peut tracer, de la correspondance des sols et des gels, le tableau suivant, en tenant compte des cas intermédiaires.

GRANULES eyant peu de liaison avec le solvant. Solutions peu visqueuses. SOLS.	GRANULES liés au solvant, imbibés per lui. Solutions visqueuses. GELS.	GRANULES fortement liés au solvant fortement imbibés par lui. Solutions très visqueuses. GELÉES.
Solutions microscopiques.	Pâtes (hydroxides, etc.).	Gelées emprisonnant des cristaux (savons).
Solutions ultramicroscopiques.	Hydrogels vrais : hydrates colloïdaux, blanc d'œuf, plasma, bile, suc pancréatique, etc.	Gelées vraies : gélatine, agar, omylopectine, savon dans l'alcool, pectine, collodion, etc.
Mélange de suspensions : microscopiques, ultramicroscopiques, amicroscopiques.		Empois : amidon, savons supérieurs, sucrates alcalino-terreux, etc.

VII. — **Structure des liquides de l'organisme** (avec G. Schaeffer)

La plupart des liquides de l'organisme : plasma recueilli avec précaution, bile, suc pancréatique, etc., sont des hydrogels, plus ou moins fluides. Les deshydratants et, suivant la réaction du liquide considéré, les acides ou les alcalis y font apparaître des granules animés de mouvements browniens plus ou moins vifs suivant que l'hydrogel est plus ou moins visqueux.

VIII. — **Structure du protoplasma** (avec G. Schaeffer) (101)

Les recherches précédentes permettent de passer à l'étude de la structure du protoplasma lui-même.

Le protoplasma animal examiné à l'état vivant (animaux uni-cellulaires, cellules du sang, cellules obtenues par dissociation des organes ou vues sur des coupes après coagulation), contient souvent un certain nombre de granulations microscopiques. Ces granulations ne sont pour ainsi dire jamais animées de mouvements browniens. Quand les granulations sont rares, on voit qu'entre elles le protoplasma est optiquement homogène. Il apparaît uniquement comme une gelée, comme un gel [1].

On sait que, d'une façon générale, le protoplasma a une réaction légèrement alcaline. Or, 1° comme tous les gels alcalins ou négatifs, il se trouble quand on y fait pénétrer des acides ; c'est-à-dire qu'il y apparaît des grains d'abord ultra microscopiques, puis microscopiques. Au contraire, il s'homogénéise par alcalinisation ;

2° Les acides, les sels de métaux lourds, et d'une façon générale toutes les substances employées comme fixateurs histologiques (il n'y a pas de fixateurs alcalins), agissent sur le protoplasma comme sur n'importe quel gel négatif, en y faisant apparaître des grains qui se précipitent. Les déshydratants (chaleur, alcool) agissent de même.

Les phénomènes que nous venons de décrire ont été observés, depuis nos publications, par un grand nombre d'expérimentateurs. L'expression de « gel protoplasmique » est devenue aujourd'hui courante.

1. Gaidukov a dit que le protoplasma est un sol ; que la vie est caractérisée par les mouvements browniens de ses granulations, et que l'arrêt de ces mouvements (sous l'action des agents nocifs), est le signe de la mort. Il a examiné des protoplasmas végétaux très aqueux, dans lesquels les granulations sont agitées de mouvements. Nous pensons que le liquide qui les contient est en réalité un gel homogène très fluide. Les agents nocifs, en le coagulant, emprisonnent les granulations immobilisées.

VII

RECHERCHES SUR LES CONSTANTES CELLULAIRES

Si le protoplasma est un gel constitué par des complexes colloïdaux en équilibre, son existence même et toutes ses propriétés physico-chimiques doivent être déterminées par les proportions de ses éléments fondamentaux. C'est cette idée directrice qui nous a amené à entreprendre une laborieuse série d'études dont nous allons donner les principaux résultats. Mais il convient d'abord de développer la question que nous nous sommes posés au début de ces recherches, entreprises avec G. Schaeffer.

On enseigne que les cellules des organismes présentent deux ordres de propriétés. Les unes sont en rapport avec leur fonction propre : la cellule musculaire est contractile, la cellule glandulaire est sécrétante. Les autres ne leur sont pas particulières ; elles se retrouvent chez toutes les cellules de l'organisme, quelques-unes même chez toutes les cellules vivantes : ce sont les propriétés protoplasmiques. Ces propriétés protoplasmiques ne peuvent avoir pour support que des constituants universellement répandus dans les cellules vivantes et soit toujours identiques, soit tout au moins de même classe, c'est-à-dire jouissant de propriétés physico-chimiques communes.

Or, les différentes cellules ne présentent pas toutes au même degré ces propriétés que toutes ont en commun. A quoi cela peut-il tenir ? Deux interprétations sont possibles. Ou bien, et c'est ce qu'on était porté généralement à admettre à la suite des travaux d'Erlich, cela est dû à ce que les constituants cellulaires communs sont dotés spécifiquement de « chaînes latérales », qui modifient les propriétés des cellules considérées. Ou bien, cela tient à ce que tout en restant identiques à eux-mêmes, ils sont en quantité variable dans les cellules des différents types : la quantité absolue des constituants ou leurs proportions relatives détermineraient alors les caractères singuliers des cellules.

Pour qu'on puisse admettre ce second point de vue, qui est celui que nous avons défendu, une condition fondamentale s'impose. Les propriétés des cellules sont stables. Si elles ne sont pas dues à des substances qualitativement distinctes, mais à la teneur absolue ou relative de certains constituants, ces quantités absolues et ces proportions doivent être fixes. Chaque constituant fondamental doit se rencontrer, dans la cellule à un taux invariable ; entre les constituants fondamentaux doivent exister des proportions fixes. Cette teneur, ce taux est une « constante » de la cellule ; ces proportions sont des coefficients constants de la cellule. Et comme, à notre sens, les propriétés générales cellulaires en doivent dépendre, ces « constantes » deviendront les indices de ces propriétés.

Existe-t-il de pareilles constantes ? Quelques-unes étaient déjà soupçonnées. On admettait la constance de la teneur en eau des organismes vivants ; on admettait la constance de leurs cendres, partant des substances minérales dissoutes, partant de leur pression osmotique. Mais, pour les constituants complexes du protoplasma, on était dans l'incerti-

tude. Il nous fallait donc, pour établir le bien-fondé de notre hypothèse, réunir d'abord des données numériques. Il fallait nous renseigner sur les quantités absolues et les proportions diverses de quelques-uns des éléments importants des différentes cellules.

Première partie. Teneur des tissus et du sang en lipoïdes (132, 139, 143, 144, 146, 147, 151)

Parmi les corps dont la présence est générale dans les cellules vivantes et sur lesquels notre attention était particulièrement attirée, se présentaient d'abord les lipoïdes.

Nos recherches sur les mitochondries que nous exposerons plus loin, nous avaient en effet montré la présence universelle de ces constituants cellulaires. Et dès nos premiers essais de recherches quantitatives sur l'hémolyse, nous avions été frappés du fait que la teneur de ces corps était très fixe dans les éléments du sang.

Dès lors, nous étions amenés à nous poser les questions suivantes : Y a-t-il une constance physiologique des lipoïdes dans les tissus ? La teneur des tissus en lipoïdes varie-t-elle d'un organe à l'autre, et dans quelle limite ? Dans un même tissu, les différents lipoïdes sont-ils toujours dans une même proportion, ou leurs variations sont-elles indépendantes ?

On ne pouvait répondre *a priori* à ces questions. Si l'on s'en tenait aux idées courantes sur les lipoïdes, il semblait que la réponse dût être négative. En effet, pour ce qui est des phosphatides et des composés d'acides gras en général, on avait deux raisons de ne les point considérer comme constants : les travaux d'Erlandsen, de Fraenkel, d'Iscovesco, attiraient l'attention sur les différences entre les divers lipoïdes et tendaient à faire admettre que chaque tissu, chaque organe, a ses lipoïdes spécifiques sans que l'idée d'une proportion fixe de ces corps dans les cellules ait jamais été admise. D'autre part, dans les travaux sur le métabolisme, on ne considère les acides gras qu'en tant qu'ils font partie des graisses neutres, c'est-à-dire comme réserves énergétiques et on était fondé à croire qu'ils sont inconstants comme le sont les réserves de ce genre. L'examen des résultats de dosages faits par nos devanciers ne permettaient d'ailleurs aucune conclusion, la plupart ayant été obtenus par des méthodes peu dignes de créance.

Dans ces conditions, il nous a fallu vérifier ou établir de nouvelles méthodes d'analyses et faire nous-mêmes de laborieuses séries de dosages.

I. — Méthodes de dosage

Dosage des acides gras. — Nous avons fait une étude complète de la méthode de dosage des acides gras de Kumagawa et Suto, qui met en jeu la saponification totale des tissus et précise les précautions à prendre pour que cette méthode puisse être correctement appliquée.

Dosage du phosphore lipoïdique. — Nous avons fait une critique expérimentale des différentes méthodes de dosage des phosphatides et conclu qu'aucune des méthodes proposées jusqu'ici ne permettent un dosage exact de ces substances. Nous avons alors établi une méthode indirecte de dosage qui consiste à rechercher la teneur du phosphore lié aux lipoïdes (phosphore lipoïdique total), en nous assurant que nous extrayions tous les

lipoïdes phosphorés et eux seulement. Le principe de la méthode consiste à extraire le tissu par l'alcool au moyen de l'appareil de KUMAGAWA, à reprendre le résidu par l'éther absolu, à minéraliser l'extrait éthéré par la méthode de NEUMANN et à doser le phosphore à l'état de phospho-molybdate.

DOSAGE DE LA CHOLESTÉRINE. — WINDAUS a montré que la cholestérine forme à chaud, avec la digitonine en solution dans l'alcool absolu, un composé défini. On peut ainsi la doser. Nous avons pensé à combiner la méthode de KUMAGAWA qui permet d'extraire toute la cholestérine avec celle de WINDAUS qui permet de ne doser qu'elle.

EXPRESSION DES RÉSULTATS. — 1° *Tissus*. Pour les tissus, les dosages sont exprimés soit en grammes pour 100 grammes humides, soit en grammes pour 100 grammes secs. Dans ce second cas, des échantillons des tissus recueillis au moment même du sacrifice de l'animal sont enfermés immédiatement dans des flacons bouchés, pesés, puis desséchés à 105 degrés jusqu'à poids constant.

2° *Globules rouges*. — Une difficulté particulière s'est élevée quand il s'est agit de faire des dosages sur les globules rouges du sang. Il a fallu, en effet, imaginer une méthode pour connaître le poids des globules contenus dans le sang ou dans un liquide de lavage.

La plupart des analyses de globules rouges faites jusqu'ici sont exprimées en gramme pour mille parties humides, mode d'expression dénué de valeur absolue. En effet, les globules ne peuvent être physiologiquement obtenus qu'à l'état de suspension, la quantité de liquide interglobulaire (plasma, sérum ou, après lavage, eau salée ou oxalatée), est variable. De plus, la quantité d'eau contenue dans les globules eux-mêmes varie quand on passe du plasma à l'eau salée et cela inégalement, suivant l'espèce considérée. On sait aussi qu'elle varie avec le titre du liquide de lavage employé ainsi qu'avec la nature des sels qu'il contient.

Pour pouvoir rapporter les résultats des analyses au poids véritable des globules, nous avons dû imaginer une technique nouvelle pour la mesure du poids ou du volume globulaire vrai.

PREMIÈRE MÉTHODE. — Après critique des méthodes de BUGARSKY et TANGL, STEWART, HOPPES-SEYLER, BLEIBTREU, BENCE, etc., nous avons imaginé une première technique : c'est une simple application de la méthode des mélanges ; elle repose sur la détermination du poids ou du volume globulaire par des mesures de variations de poids sec ou de densité.

Dans une purée donnée, on détermine le poids sec ou la densité du liquide interglobulaire. On ajoute à cette purée une solution ou un liquide qui ne change ni l'imbibition des globules, ni l'état actuel de répartition des électrolytes entre les hématies et le liquide qui les baigne. Après centrifugation du mélange, le liquide surnageant a un poids sec ou une densité qui est la moyenne arithmétique entre le poids sec (ou la densité) du liquide interglobulaire primitif, et le poids sec (ou la densité) du liquide ajouté. Dès lors, connaissant le poids ou le volume de la purée de globules, le poids ou le volume du liquide ajouté, les poids secs (ou les densités) du mélange, on a très simplement le poids ou le volume globulaire. Suivant qu'on cherche le poids ou le volume globulaire, on doit naturellement faire les mesures en poids ou en volume. (Il y a d'ailleurs, à tous points de vue, à faire les mesures en poids.)

Pour opérer par cette méthode, on peut, soit augmenter, soit diminuer la densité ou le poids sec par adjonction d'une solution appropriée au liquide interglobulaire. Parmi les solutions plus denses que le liquide, nous nous sommes arrêtés à l'emploi de solutions de gomme arabique de 5 à 10 p. 100 dans l'eau salée à 9 p. 1000. Les solutions, avant l'emploi, sont toujours

centrifugées à une vitesse plus grande que celle qui sera ultérieurement utilisée dans l'expérience. Comme liquide abaissant la densité, l'eau salée à 9 p. 1000 convient très bien pour la détermination du poids globulaire dans le sang total ou défibriné. Enfin, dans des conditions de concentration bien déterminées, le propre sérum de l'animal ayant donné les globules fournit de bons résultats.

Deuxième méthode. — *Calcul au moyen de coefficients.* On ne peut pas toujours déterminer le poids globulaire réel de la purée sur laquelle on fait les dosages. Mais il est possible de déterminer une fois pour toutes, et cela pour chaque espèce animale, un coefficient tel qu'on puisse passer du calcul en p. 100 sec au calcul en p. 100 humide. L'expérience montre en effet que, dans une eau salée de concentration donnée, voisine de l'isotonie, le poids ou le volume globulaire sont toujours, à peu près, les mêmes pour une espèce animale donnée [1].

Voici, par exemple, sept déterminations faites sur des globules de cheval, et exprimant le poids humide frais, le poids sec globulaire et le rapport du poids humide au poids sec pour ces globules, lorsque la concentration de l'eau salée varie de 8 à 10 grammes p. 1000.

Globules de sept chevaux différents

Poids sec des globules.	Poids globulaire humide vrai.	Rapport.	Titre de l'eau salée dans laquelle a été faite la détermination (NaCl p. 100).
0,2975	0,847	0,347	8
0,3159	0,860	0,368	8,5
0,2964	0,9350	0,315	9
0,351	0,9496	0,360	9
0,3157	0,844	0,375	9
0,3152	0,848	0,373	9,5
0,2939	0,833	0,352	10,0

La moyenne des sept déterminations du rapport est : 0,355. L'écart individuel moyen autour de ce nombre est : 0,097 ; ou 3,8 p. 100 quand on fait la moyenne égale à 100. C'est-à-dire qu'à 4 p. 100 près, un certain poids sec de globules de cheval a, dans une eau salée isotonique (8 à 10 p. 100), toujours le même poids humide. Nous avons déterminé ce rapport : $\frac{\text{poids humide globulaire réel}}{\text{poids sec}}$ pour toutes les espèces globulaires que nous avons considérées. Voici la liste de ces coefficients, à laquelle il ne faut attacher de valeur qu'autant qu'on opère dans des conditions rigoureusement identiques à celles dans lesquelles nous nous sommes placés (globules aseptiques lavés immédiatement après la saignée, conservés de dix-huit à vingt-quatre heures à la glacière, dans une eau salée privée de CO^2, et centrifugés à une vitesse n'excédant jamais deux mille tours).

Coefficients $\frac{PH}{PS}$ p. 100 ou poids sec de 100 grammes de globules frais.

Bœuf.	Poule.	Chien.	Porc.	Mouton.	Cheval.	Lapin.	Cobaye
32,76	36,35	33,78	33,92	35,12	35,49	30,80	30,33

A l'aide de ces coefficients, on peut donc transformer en p. 100 humide les résultats obtenus en p. 100 sec.

1. Ce fait n'est que l'application d'un phénomène plus général dépendant des lois de l'imbibition des tissus, et sur lequel nous reviendrons plus loin.

II. — Teneur des tissus en acides gras

Présence des acides gras. — Nous avons examiné différents tissus de Mammifères, Oiseaux, Reptiles, Batraciens et Poissons. D'une façon générale, on trouve des acides gras fixes dans tous les tissus sans exception. Une partie au moins de ces acides gras ne constituent pas de réserves énergétiques. Chez les animaux normaux, la teneur en acides gras des parenchymes est indépendante des états nutritifs comme l'ont montré les recherches de Terroine et Jeanne Weill poursuivies en connexion avec les nôtres.

Teneur en acides gras. Mammifères. — Si l'on examine les différents tissus chez les Mammifères (chien, lapin, cobaye), on constate que dans une même espèce et pour un parenchyme donnés on trouve une teneur en acides gras qui varie peu d'un individu à l'autre. Par exemple, les écarts autour de la moyenne sont inférieurs à 1 p. 100 chez le cobaye.

Par contre, les écarts dans les muscles sont plus forts ; une discussion de ce fait nous a montré que ces organes contiennent, dans les faisceaux intermusculaires, des graisses qui sont des réserves énergétiques. On se trouve là dans un cas analogue à celui qu'on observe dans certains tissus d'animaux à sang froid.

III. — Teneur des tissus en lipoïdes phosphorés

Le dosage des acides gras totaux ne peut donner qu'un résultat de première approximation, puisqu'il ne permet d'apprécier qu'en bloc phosphatides, graisses neutres, savons, éthers de la cholestérine. Pour avoir des résultats plus précis, il est indispensable de pouvoir doser ces composés séparément.

C'est ce que nous avons essayé de faire en dosant les lipoïdes phosphorés des tissus. Nous avons pris pour mesure de la teneur en phosphatides celle du phosphore lipoïdique total. Les nombreuses analyses que nous avons faites nous ont montré les faits suivants :

1° Dans une espèce animale donnée, la teneur en phosphore lié aux lipoïdes est assez caractéristique de chaque organe. Par exemple, il est toujours plus abondant dans le foie ou dans le rein que dans le muscle.

2° Chez les différents individus d'une même espèce, la teneur en phosphore lipoïdique d'un organe donné oscille relativement peu autour d'une moyenne. Les écarts individuels sont moins grands que ceux qu'on constate pour les acides gras.

3° Dans une série d'espèces animales, les valeurs trouvées pour certains organes sont voisines. Contrairement à ce qui se passe pour les acides gras, il n'y a pas de différence marquée pour les différentes espèces d'un même groupe.

Quand on calcule les résultats par rapport au poids total (humide) de l'organe, on aboutit à *une constante qui définit presque l'espèce cellulaire considérée chez tous les animaux étudiés.*

TENEUR DE 100 GRAMMES DE TISSU HUMIDE EN PHOSPHORE LIPOIDIQUE TOTAL (EXPRIMÉ EN GRAMMES DE P.)

	Foie.	Rein.	Poumon.	Muscle.
Chien	0,145	0,128	0,099	0,053
Lapin	0,142	0,122	0,096	0,039
Cobaye	0,148	0,124	0,135 (?)	0,053
Pigeon	0,143	0,157	0,107	0,093
Anguille [hépatopancréas]	0,127	0,120	»	0,036

4° Les moyennes des teneurs en phosphore lipoïdique des différents organes ne semblent pas varier au cours de l'inanition ou de la suralimentation. Il ne semble donc pas que le phosphore lipoïdique soit engagé dans des combinaisons constituant des réserves énergétiques.

D'ailleurs, dans les parenchymes, le rapport $\left(\frac{\text{acide gras}}{\text{phosphore lipoïdique}}\right)$ se rapproche de celui qui existe dans les phosphatides connus. Dans d'autres organes et surtout dans les muscles, il est beaucoup plus grand, ce qui semble bien montrer que les muscles contiennent des dépôts de graisses neutres.

La teneur en phosphore lipoïdique est donc caractéristique d'un organe donné. C'est une constante cellulaire, un indice lipocytique.

III. — Teneur des tissus en cholestérine

Chez tous les animaux examinés, la *teneur des tissus en cholestérine est caractéristique de chaque organe considéré, dans une espèce donnée.* Si on classe par rapport à leur teneur en cholestérine les différents organes, l'ordre est le même dans les différentes espèces : le poumon en contient plus que le rein, qui en contient plus que le foie, qui en contient plus que le muscle.

IV. — Coefficient lipocytique des tissus

Il résulte de ce qui précède que, dans un même organisme, le rapport $\left(\frac{\text{cholestérine}}{\text{acides gras}}\right)$ et surtout $\left(\frac{\text{cholestérine}}{\text{phosphore lipoïdique}}\right)$ est assez caractéristique d'un organe donné. Par exemple, le rapport $\left(\frac{\text{cholestérine}}{\text{acides gras} \times 100}\right)$ chez le chien est de 20 dans le poumon, 10,5 dans le rein, 6,8 dans le foie, 2,2 dans le muscle. Il y a donc un coefficient lipocytique, spécifique du tissu. Fait remarquable : dans tous les organismes que nous avons considérés, si l'on classe les organes par rapport à ce coefficient, on obtient toujours le même ordre.

	Poumon.	Rein.	Foie	Muscle.
Chien	20,0	10,5	6,8	2,2
Lapin	17,1	13,3	8,4	7,3
Cobaye	15,5	7,8	6,5	1,6
Pigeon	24,1	9,1	7,9	1,6
Anguille	11,2 (branchies)	7,1	3,8	0,7

V. — Teneur en lipoïdes du sang

A. *Globules rouges*

Nous avons recherché si dans les globules du sang et dans le plasma, les éléments lipoïdes existent toujours et existent en proportions constantes.

L'examen de nos résultats montre que les écarts individuels autour de la moyenne sont du même ordre de grandeur, quelquefois un peu plus grands (surtout chez le lapin et le cobaye), que ceux qu'on observe dans les tissus.

1° Indices lipocytiques. — *Acides gras*. La teneur des hématies en acides gras est faible. Elle est plus faible que celle de tous les parenchymes. Elle n'est d'ailleurs pas très différente chez les divers Mammifères. Chez les Oiseaux (poule), elle est plus forte que chez les Mammifères (un tiers en plus que chez le cobaye), ce qui est en rapport avec ce que l'on constate pour les autres tissus.

Cholestérine. — La teneur absolue en cholestérine est faible. Elle est du même ordre que celle qu'on trouve par exemple dans certains muscles. Les valeurs trouvées sont très voisines pour toutes les espèces examinées.

Phosphore lipoïdique total. — Comme pour les acides gras, la teneur des hématies en phosphore lipoïdique est plus petite que celle des cellules parenchymateuses. Elle est du même ordre de grandeur dans les différentes espèces.

2° Rapport : $\left(\frac{\text{Acides gras}}{\text{Phosphore lipoïdique}}\right)$.

L'examen de nos tableaux nous montre *que dans toutes les espèces de globules, ce rapport est d'une remarquable constance.* Chez tous les animaux examinés, sauf chez le lapin, on trouve un chiffre identique, 23 environ.

Poule.	Chien.	Lapin.	Porc.	Cheval.	Cobaye.	Bœuf.	Mouton.
23,0	23,5	13,6	23,2	23,0	23,5	23,5	23,1

La constance de ce rapport n'est pas faite pour donner l'idée qu'il y aurait, dans les hématies des différentes espèces, des lipoïdes spécifiques très dissemblables les uns des autres.

3° Coefficient lipocytique : $\left(\frac{\text{Cholestérine}}{\text{Acides gras}}\right)$. Ce coefficient est plus grand que celui de tous les autres tissus. Nous examinerons plus loin les conséquences de ce fait.

Composition des globules placés dans leur propre sérum. — Grâce à la méthode indiquée plus haut, nous avons pu calculer la composition des globules dans leur propre sérum.

Ce calcul fait apparaître que dans leur propre sérum, les globules des Mammifères considérés ont à peu près la même teneur (rapportée au poids frais) en acides gras ou en phosphore lipoïdique total. C'est pour les globules rouges, le même phénomène que nous avions trouvé pour les lipoïdes phosphorés des autres cellules de l'organisme.

Voici un exemple de ce fait.

Teneur en phosphore lipoïdique total, calculée en P pour 100 humide d'hématies contenues dans le sérum même de l'animal, seize heures après la saignée.

Exp. I

Cobaye.	Lapin.	Cheval.	Porc.	Mouton.	Chien.	Bœuf.
0,014	0,029	0,012	0,016	0,015	0,016	0,012

Ici encore, on trouve pour le lapin une valeur différente de celle qu'on obtient pour les autres animaux.

B. — Plasma et sérum sanguin, indices lipémiques. — Tandis qu'on pouvait s'attendre à trouver pour les hématies une constance de la teneur en lipoïdes analogue à celle des autres cellules, on pouvait au contraire, prévoir que la partie liquide du sang présenterait des quantités variables de ces éléments. Tous les auteurs sont, en effet, d'accord pour signaler le retentissement des états de la nutrition sur la composition du sérum en lipoïdes. Une étude systématique des rapports de l'alimentation et de la teneur du sang en acides gras et en cholestérine, a d'ailleurs été poursuivie en connexion avec les nôtres par Terroine et Jeanne Weill.

Teneur des sérums en acides gras. — Il semble bien qu'en dehors des variations alimentaires, il y ait d'une façon permanente une certaine teneur du sérum en acides gras. C'est elle qui exprime la moyenne autour de laquelle oscillent les valeurs obtenues, oscillations plus ou moins étendues suivant l'état de nutrition de l'animal. Il est à remarquer que, de même que nous avons observé, en ce qui concerne les cellules, des types physiologiques différents caractérisés par des valeurs plus ou moins grandes des indices lipocytiques, de même des types physiologiques de ce genre existent pour les sérums. Ce sont précisément les espèces dont les cellules contiennent le plus d'acides gras qui paraissent en présenter aussi le plus dans leurs sérums. Par exemple, le sérum de la poule en contient plus que celui des mammifères ; le sérum d'anguille ou de murène plus encore, suivant une progression qui est la même que celle observée pour leurs tissus. Remarquons toutefois que la valeur absolue des quantités d'acides gras trouvées dans les sérums est plus basse que celle des acides gras des tissus.

Teneur des sérums en phosphore lipoïdique total. — La série progressive que nous avons établie pour les teneurs en acides gras se retrouve quand on examine le phosphore lipoïdique total. Il est à remarquer qu'elle est bien plus nette quand on exprime les résultats pour 1,000 grammes humides, soit en « concentration » des lipoïdes phosphorés dans le sérum. Nous voyons donc que, tandis que pour les cellules parenchymateuses le phosphore

lipoïdique total est à la même concentration dans les cellules d'un tissu donné chez différentes espèces, au contraire, il est variable d'une espèce à l'autre dans le sérum.

Rapport $\left(\frac{\text{acides gras}}{\text{phosphore lipoïdique}}\right)$. Dans certaines espèces, il peut se trouver, dans les conditions ordinaires de la nutrition, que ce rapport soit analogue à celui des cellules. Mais le plus souvent, il est très supérieur, montrant ainsi une fois de plus avec évidence l'existence dans le sang d'acides gras non engagés dans les phosphatides (graisses neutres, savons, éthers de la cholestérine, etc.).

Teneur des sérums en cholestérine totale (libre ou combinée). Rapport $\left(\frac{\text{cholestérine}}{\text{acides gras}}\right)$ (coefficient lipémique). Dans le sérum, la teneur en cholestérine totale paraît progresser dans le même sens que les acides gras ou le phosphore. Ces deux éléments ne croissent d'ailleurs pas suivant la même proportion. Le rapport $\left(\frac{\text{cholestérine}}{\text{acides gras}}\right)$ (coefficient lipémique) n'est pas le même dans toutes les espèces examinées. Ce rapport est très élevé, il est du même ordre que celui qu'on trouve dans les globules rouges.

La teneur en cholestérine ne paraît pas dépendre de l'alimentation habituelle de l'espèce considérée. On voit la poule (granivore) placée dans la série entre un omnivore comme le chien et une larve qui ne prend pas de nourriture, comme l'anguille. D'autre part, on ne voit pas pourquoi, chez les herbivores comme le cobaye et le bœuf, les sérums seraient si dissemblables, si l'importance du régime habituel de l'animal était plus grande que celle du type physiologique.

Nous donnons ci-dessous les moyennes de plusieurs centaines d'analyses :

Moyennes des teneurs des sérums en acides gras, cholestérine, phosphore lipoïdique total exprimé en P (par litre)

	Acides gras.	Cholestérine.	Phosphore lipoïdique.
Cobaye	1,015	0,234	0,006
Lapin	1,740	0,405	0,018
Mouton	1,755	0,770	0,019
Bœuf	1,712	0,831	0,037
Cheval	2,787	0,826	0,052
Porc	2,706	1,239	0,027
Chien	4,060	1,170	0,110
Poule	4,977	1,156	0,096
Anguille	19,566	1,626	0,353

Deuxième partie. — Teneur des tissus en eau

A. On trouve dans la bibliographie un grand nombre de chiffres dus à Rubner et à ses élèves, à Steinetz, à Lafayette Mendel, à Tangl, à Von Liebermann, à Bottazzi, sur la teneur en eau des organismes entiers et des principaux tissus. Nous avons nous-mêmes fait un très grand nombre de déterminations. On constate, en examinant les résultats des

analyses, que la teneur en eau des différents tissus est remarquablement fixe. L'écart moyen autour de la moyenne, si on fait celle ci égale à 100, oscille entre 0,50 et 2, chiffre maximum.

B. Si on considère des tissus homologues dans différentes espèces de Mammifères, par exemple, on voit que ces tissus n'ont pas la même teneur en eau dans les différentes espèces, que l'on considère le poumon, le foie ou le muscle. On pourrait donc classer les espèces d'après la teneur en eau de leurs protoplasmas homologues.

C. Si l'on examine, dans une même espèce, la répartition de l'eau dans les différents tissus, on constate que dans un même organisme, l'eau est inégalement répartie dans les différents tissus.

(Imbibition moyenne des tissus (pour 100 grammes du tissu sec dans l'organisme)

Espèce animale	Imbibition des divers tissus				
	Poumon.	Rein.	Muscles.	Foie.	Cerveau.
Pigeon	310	306	241	241	
Chien	352	315	281	236	
Lapin	408	340	335	278	399
Cobaye	387	416	347	278	
Rat					339

D. On peut donc classer les organes d'après leur imbibition. On constate alors que l'imbibition relative des différents tissus est la même, quelle que soit l'espèce considérée.

Les résultats que nous venons d'exposer ont été confirmés par les travaux de Bloor et de ses collaborateurs. Le Congrès de médecine de Bruxelles ayant mis la question des « lipoïdes » à son ordre du jour, ces travaux ont été longuement exposés par les rapporteurs, MM. Linossier et E. Zunz, et ont servi de base aux discussions.

VIII

ESSAIS DE BIOMÉTRIQUE CHIMIQUE

(avec G. SCHAEFFER) (162)

Toute recherche biométrique se heurte à deux ordres de difficultés : 1° dans le poids des organismes entiers entrent les aliments aux divers stades de l'assimilation, ainsi que les réserves hydrocarbonées et grasses entreposées dans l'organisme ; ces réserves peuvent être d'ailleurs localisées, hors des parenchymes, dans certains tissus spécialisés (cas des réserves grasses chez les homéothermes), ou réparties dans les parenchymes eux-mêmes (cas des réserves grasses des hibernants et des poïkilothermes). En ce qui concerne les composés d'acides gras, un élément variable (réserves) se trouve donc superposé à l'élément constant représenté par les constituants des parenchymes. 2° Comme nous le verrons plus loin, les animaux homéothermes ont des parenchymes de composition très fixe, quelle que soit l'époque de l'année à laquelle on les examine (animaux homéochymes). Il n'en est pas de même des poïkilothermes (animaux poïkilochymes). D'où la nécessité de n'étudier ces derniers animaux que pris dans les mêmes conditions physiologiques. Ces deux ordres de faits rendent difficile l'établissement de la masse permanente de l'organisme total ; en particulier, la recherche d'une constance liposomatique est assez malaisée.

Malgré ces difficultés, nous avons cherché la teneur en phosphore lipoïdique des organismes entiers, dans une série d'espèces animales et, pour les poïkilothermes, en comparant des individus pris au même moment. Voici quelques-uns de nos résultats :

PHOSPHORE LIPOÏDIQUE TOTAL (EXPRIMÉ EN P) PAR KILOGRAMME D'ANIMAL

Homéothermes.							
Becs d'argent (Clydemosine cantans). .	0,74	0,77	0,78	0,76	»	»	»
Bengalis (Sporoegynthus melpodus). .	0,84	0,84	0,84	0,78	0,78	0,84	0,87
Rats.	0,60	0,63	0,54	0,63	0,55	»	»
Souris.	0,84	0,77	0,77	0,74	0,84	0,74	0,77
Chauves-souris.	0,91	0,98	0,91	0,87	0,84	0,84	0,84
Cyprins (Cyprinus auratus).	0,45	0,34	0,44	0,33	0,43	0,34	0,38
Tanches (Tinca vulgaris).	0,47	0,48	0,48	0.47	0,35	0,35	0,39
Grenouilles (Rana temporaria).	0,41	0,38	0,39	»	»	»	»
Grenouilles (Rana temporaria).	0,35	0,37	0,35	0,36	0,36	»	»
Poïkilothermes.							
Tritons (Triton cristatus).	0,44	0,43	0,48	»	»	»	»
Palourdes (Tapes decussatus).	0,39	0,43	0,39	0,47	0,46	»	»

Sangsues (Hirudo officinalis)	0,25	0,23	0,24	0,24	0,24	0,27	»
Astéries (Asterias rubens)	0,33	0,30	0,32	0,26	»	»	»
Actinies (Anemone sulcata)	0,42	0,40	0,32	0,34	»	»	»

On voit donc que dans chaque espèce, et surtout chez les homéothermes, la teneur en phosphore lipoïdique des divers individus est du même ordre de grandeur; elle oscille même relativement peu autour d'une valeur constante. Il est donc probable qu'il existe une « constance liposomatique » totalisation des divers « constances lipocytiques ».

Masse permanente des tissus et biométrique chimique. — Les constatations ci-dessus montrent qu'on peut établir des rapports biométriques en se servant des constantes cellulaires. Par exemple, on peut comparer la quantité absolue de phosphore lipoïdique contenue dans un organe donné à celle de l'organisme entier, ou simplement au poids de l'organisme entier. On constate ainsi que la masse de certains organes, mesurée par leur teneur en phosphore lipoïdique, est toujours dans un rapport fixe avec la masse du corps. Il en est ainsi par exemple des reins. Chez des cobayes ou des rats pris au hasard, on trouve les nombres suivants :

Quantité en milligrammes, de phosphore lipoïdique contenue dans les reins par kilogramme d'animal

Cobayes	10	10	12	13	11	11
Rats	13	11	14	14	11	11

Or, bien plus que le rapport du poids du rein au poids du corps, celui que nous venons d'établir est susceptible de varier à l'état pathologique.

Constance liposomatique au cours de la croissance. — La teneur en lipoïdes de l'organisme entier étant constante et donnant une mesure de la masse permanente, comment se comporte-t-elle au cours de la croissance? Nous l'avons étudiée, pour le phosphore lipoïdique et la cholestérine, dans une série d'espèces animales.

Voici les résultats relatifs au phosphore lipoïdique et à la cholestérine, étudiés chez le rat :

Phosphore lipoïdique total (exprimé en P) par kilogramme

Rats de 4 grammes à 5 grammes	0,49	0,50	0,52	0,55	0,61	0,61
— 8 — à 9 —	0,60	0,57	0,56	0,54	0,57	0,56
— 12 — à 14 —	0,59	0,62	0,62	0,64	0,63	0,61
— 17 — à 19 —	0,58	0,60	0,57	0,58	0,59	0,63
— 80 — à 115 —	0,60	0,63	0,54	0,63	0,55	»

Cholestérine par kilogramme

Rats de 4 grammes à 5 grammes	1,2	1,2	1,6	1,6	»	»
— 8 — à 9 —	3,2	2,7	3,1	2,7	3,3	2,8
— 12 — à 14 —	2,6	2,9	3,0	2,8	2,8	2,9
— 17 — à 19 —	2,2	2,4	2,3	3,3	2,9	2,9

On voit, en ce qui concerne la cholestérine, que, peu après la naissance, la concentration

augmente brusquement, puis varie relativement peu. On constate les mêmes phénomènes en ce qui concerne le phosphore lipoïdique. Très peu après la naissance, la teneur en P augmente, phénomène bien visible chez la souris; puis les nombres trouvés chez le jeune sont les mêmes que ceux rencontrés chez l'adulte; par exemple, le rat de 5 grammes et le rat de 118 grammes présentent dans leur organisme la même concentration globale en phosphore lipoïdique. La masse des lipoïdes phosphorés paraît donc proportionnelle à la masse du corps.

La concentration en lipoïdes phosphorés étant la même chez le jeune et chez l'adulte, on peut, chez les animaux volumineux, chez lesquels l'analyse du corps entier est pratiquement impossible, tabler sur l'analyse du corps du jeune pour établir des constantes liposomatiques. Par exemple, cette constante établie ainsi est de 0,59 chez le cobaye.

IX

LES ÉQUILIBRES CELLULAIRES ET LE PROBLÈME DE LA TENEUR DES CELLULES EN EAU

Discussion théorique (154)

L'eau constitue la plus grande partie des organismes vivants. Des phénomènes physiologiques et pathologiques très importants : circulation dans les végétaux, absorption, sécrétions chez les animaux, turgescence, anhydrobiose, œdème, dépendent de ses variations. Ces faits ont de tout temps attiré l'attention des biologistes. Dans ces vingt dernières années, à la suite de l'essor pris par la chimie physique, les travaux sur ce sujet se sont multipliés.

La question est si importante, et la façon dont nous l'avons traitée est si différente de celle de nos devanciers que je crois devoir reproduire l'exposé théorique que nous avons fait, Georges SCHAEFFER et moi, de notre manière de voir.

Nous allons tout d'abord examiner dans quel esprit les expérimentateurs modernes l'ont abordé [1].

Conception de nos devanciers sur le mécanisme des échanges d'eau

Quand on lit les travaux récents, un premier fait apparaît très nettement. C'est que le problème de la teneur en eau du protoplasma a été envisagé par la plupart des chercheurs sous son aspect dynamique. Ce qu'ils ont voulu étudier le plus souvent, c'est le *mouvement*, la circulation de l'eau entre la cellule et le milieu; ce sont les *échanges* d'eau qui les intéressaient. Or, l'eau est à la fois le milieu intérieur de la cellule et son principal constituant, le milieu extérieur dans lequel elle est placée, et le solvant le plus général des substances qui y entrent ou en sortent. Comment donc étudier sa circulation? On comprendra qu'on ne peut étudier ce mouvement de l'eau que par la recherche des conditions limitatives de son entrée ou de sa sortie.

Ces conditions limitatives sont de deux sortes : 1° les unes sont liées à la structure même de la cellule; 2° les autres tiennent aux différences de composition entre

1. On comprendra bien que nous n'avons nullement la prétention de résumer en quelques pages un ensemble de travaux aussi considérable que celui que représentent les recherches modernes sur les échanges d'eau et de sels. Nous voulons simplement ici marquer les principales directions dans lesquelles se sont engagés les chercheurs.

la cellule et son milieu. Il y a donc eu, à la base de toutes les recherches sur ce sujet, explicitement ou implicitement présents à l'esprit de tous les expérimentateurs, deux partis pris fondamentaux : 1° une conception de la structure du protoplasma, ou tout au moins de la surface limitante (membrane) qui le sépare de son milieu; 2° un choix parmi les composés chimiques présents dans la cellule et au dehors pour déterminer ceux qui jouent un rôle prépondérant dans le mouvement de l'eau. Chaque chercheur, ayant isolé ces conditions limitatives, les a étudiées; et, d'après leur étude, il a adopté l'hypothèse qui lui semblait la plus vraisemblable sur la nature de la force motrice dont dépend le mouvement de l'eau. Mais à la vérité, on peut dire que cette hypothèse lui était presque dictée d'avance par les conditions limitatives sur lesquelles son attention était attirée.

A) Hypothèses reposant sur l'existence d'une membrane péricellulaire, sur sa structure, et les conditions limitatives qu'elle peut déterminer. — Toute une série d'expérimentateurs — et les travaux de quelques-uns d'entre eux sont aujourd'hui classiques — ont fait reposer leurs recherches sur l'idée que la cellule est nécessairement entourée d'une membrane. La nature, les propriétés de cette membrane détermineraient le mécanisme des échanges entre la cellule et son milieu. C'est, en particulier, le point de vue des auteurs qui ont, au cours de ces dernières années, étudié la pression osmotique et son rôle dans les êtres vivants.

1° *Membranes hémiperméables.* — Les premiers expérimentateurs qui ont mis en relief le rôle de la pression osmotique se représentaient la structure cellulaire de la façon suivante : la cellule était pour eux toujours limitée à la périphérie par une membrane anatomiquement différenciée, comme on en voit dans les tissus végétaux, et cette membrane était strictement hémiperméable. Quant aux corps déterminant le mouvement de l'eau, c'étaient exclusivement pour eux les corps en solution vraie, les cristalloïdes, électrolytes ou non (sels, sucres, etc.). Dans cette théorie le protoplasma est schématisé; on considère que, de tous ses constituants, ce ne sont que les corps dissous dans l'eau qui jouent un rôle actif. Dès lors les mouvements de l'eau ne sont plus déterminés que par les différences de concentration de ces corps dissous, dans la cellule, d'une part, dans le milieu extérieur, de l'autre. De ces conditions limitatives, Traube, Pfeffer, Van T'Hoff, De Vries, Hamburger, etc., ont déduit que la force active déterminant les échanges d'eau était la pression osmotique.

2° *Membrane à perméabilité variable.* — La conception précédente pourrait à la rigueur rendre compte du passage de l'eau, mais n'expliquerait pas celui des substances dissoutes. D'autre part, les physiologistes (Heidenhain, etc.), ont fait connaître un grand nombre de cas dans lesquels le mouvement de l'eau n'est pas de grandeur ou de sens tels que la pression osmotique puisse l'expliquer. Il a donc fallu modifier le point de vue primitif. Pour ce qui est de la structure de la cellule, on a continué à admettre que celle-ci était limitée par une membrane; mais cette membrane n'était plus absolument hémiperméable; ou tout au moins sa perméabilité pouvait être modifiée dans telle ou telle condition. De ces conditions la plus importante était la nature même des électrolytes qui la baignaient, certains ions ayant sur la membrane une influence particulière. Dans cette théorie, dont on

trouve les premiers éléments dans les travaux de Loeb et d'Overton, l'équilibre entre des ions qualitativement distincts présents dans le milieu (Ca, K et Na, par exemple), commande la perméabilité relative de la membrane et indirectement le mouvement de l'eau.

On a pu représenter d'une manière plus précise le mode d'action des différents ions. On a admis que la membrane était colloïdale et que dès lors les divers ions pouvaient être pour elle précipitants ou non. Ces actions régleraient la perméabilité de la membrane, comme les ions règlent d'une façon générale la liaison des colloïdes avec l'eau. On aurait donc ici trois forces en présence, dont l'interaction déterminerait le mouvement de l'eau dans les cellules : la différence de pression osmotique entre la cellule et le milieu; une force (pouvoir précipitant) dépendant de certaines qualités des ions (charge, vitesse de transport, etc.); une force mesurant la cohésion de la membrane ou plus exactement sa liaison avec l'eau.

3° *Membranes à lacunes capillaires.* — Du moment qu'on ne considère plus seulement la concentration moléculaire des corps dissous, mais aussi leur dissociation et les propriétés des ions, on doit porter son attention sur la charge de ces ions et sur les phénomènes qu'elle peut déterminer. C'est ce qu'a fait Girard. Pour ce qui est de la structure de la cellule, il admet l'existence de la membrane limitante. Mais il ajoute que cette membrane peut être représentée comme ayant une structure micellaire, comme traversée par des canalicules capillaires entre des septums solides. C'est par ces canalicules que se ferait pour lui le mouvement de l'eau. Les parois de ces capillaires seraient susceptibles d'acquérir une charge électrique, dont le signe dépendrait de celui des ions, et notamment des ions H et OH présents en excès dans le milieu. Une double couche de Helmoltz naîtrait, pouvant déterminer le sens du mouvement de l'eau qui se ferait par cataphorèse, comme dans les expériences de Perrin. La force motrice déterminant le mouvement de l'eau serait donc un champ électrique. Ce champ dépendrait de deux facteurs : d'une part de la différence de potentiel réalisée entre les liquides de chaque côté de la membrane; d'autre part de la polarisation propre de cette membrane, ces deux actions s'ajoutant algébriquement. L'intensité du glissement de l'eau à travers la membrane dépendrait de l'intensité du champ réalisé, c'est-à-dire de cette somme algébrique.

Aux différentes forces invoquées par les précédents auteurs, Girard ajoute donc la force électromotrice développée par les ions au contact des membranes cellulaires.

4° *Membranes lipoïdes.* — Un aspect nouveau de la question est né des recherches entreprises dans ces dernières années par Overton et Hans Meyer. Ces auteurs ne cherchaient pas à comprendre le mécanisme du mouvement de l'eau, mais au contraire, se demandaient comment les corps qui y sont peu ou pas solubles (anesthésiques, colorants vitaux, etc.), peuvent pénétrer dans la cellule et s'y trouver plus concentrés que dans le milieu extérieur. Si l'on admet l'existence d'une membrane cellulaire périphérique, il devient indispensable, pour comprendre le passage de ces corps, d'admettre qu'ils sont solubles dans cette membrane. L'originalité du point de vue d'Overton a été d'imaginer que cette membrane est composée

de lipoïdes. Dès lors les corps peuvent pénétrer dans la membrane dans la mesure où ils sont solubles dans les lipoïdes; c'est-à-dire d'autant plus facilement que leur coefficient de partage entre les lipoïdes et l'eau est plus grand. Cette conception s'est montrée féconde, et rend compte du passage et de la répartition dans les cellules vivantes d'un grand nombre de composés chimiques. Mais, au point de vue de la question que nous traitons, cette théorie soulève une difficulté considérable. Elle met en effet au jour une nouvelle condition restrictive du mouvement de l'eau. Comment, en fait, imaginer à travers une membrane exclusivement composée de lipoïdes, le passage de l'eau? Pour lever cette difficulté, deux explications ont été émises; Overton admet que certains lipoïdes, comme les phosphatides, sont susceptibles de se gonfler d'eau, avec laquelle ils formeraient une sorte d'émulsion. L'eau pourrait donc pénétrer la membrane, et les seules conditions restrictives seraient dues à la présence d'autres lipoïdes qu'Overton considère comme restreignant le passage de l'eau, les cires et la cholestérine. Se plaçant à un autre point de vue, Natanson imagine que la membrane serait « analogue à une mosaïque » et composée à la fois d'albuminoïdes, permettant le passage de l'eau, et de lipoïdes, permettant celui des corps insolubles dans ce véhicule.

Quoi qu'on puisse penser de la valeur de ces correctifs il faut en tout cas remarquer qu'il est indispensable d'en trouver à la théorie primitive d'Overton. Une membrane composée exclusivement de corps analogues aux graisses rendrait en effet tout mouvement d'eau impossible. Reste à imaginer, en se basant sur les conditions limitatives nouvelles dégagées, la force motrice des échanges. Pour Overton, c'est la différence de solubilité des corps (de l'eau comme des autres) dans la membrane cellulaire et dans le milieu. Le maximum et les modalités des échanges sont déterminés par la « tension de dissolution » des divers corps dans cette membrane elle-même.

Toutes les conceptions que nous venons de passer en revue reposent sur l'existence d'une membrane périphérique : chaque auteur la grée d'une propriété nouvelle, et l'idée qu'il se fait des échanges dépend étroitement de la représentation qu'il se fait de la membrane elle-même; elle est hémiperméable, et alors le mouvement de l'eau dépend de la pression osmotique; elle est colloïdale et de perméabilité variable, et alors le mouvement d'eau est influencé par la qualité des ions présents dans le milieu; elle est lacunaire, canaliculaire, et alors le mouvement d'eau est dû à la cataphorèse. Cependant, il faut qu'elle puisse, en outre, concentrer les corps insolubles dans l'eau; elle sera pour cela, lipoïde. Mais, malgré cela, il faut qu'elle reste pénétrable par celle-ci. Elle sera donc composée de phosphatides; ou d'une mosaïque de lipoïdes et d'albuminoïdes. Dans les deux cas, le mouvement de l'eau dépend de sa solubilité dans la membrane cellulaire.

B) Hypothèse ne reposant pas sur l'existence d'une membrane, mais sur les propriétés des colloïdes cellulaires. — Il existe un autre groupe de chercheurs dont la position est bien particulière. Pour expliquer les échanges d'eau, ils ne croient pas avoir besoin d'une membrane existant à la périphérie de la cellule. Et, en effet, il faut bien dire que l'existence même de cette membrane n'est pas certaine. Si elle a paru indispensable aux botanistes, il s'en faut que son existence soit

rigoureusement démontrée dans toutes les cellules animales. A la vérité, on peut toujours dire que la membrane dont il s'agit n'est pas une membrane aux sens anatomique, histologique du mot, mais une couche périphérique dont la composition serait différente de celle du protoplasma, et qui pourrait être aussi mince que les pellicules étudiées par PLATEAU ou par DUHEM et ses élèves; en somme, une simple couche limitante externe. Quoi qu'il en soit, quelques auteurs pensent que l'existence d'une telle membrane même n'est pas indispensable; qu'on peut se représenter, sans son intervention, le mécanisme des échanges, en particulier des échanges d'eau. Il suffit pour cela de prendre en considération les propriétés physico-chimiques des substances constituant le protoplasma lui-même, et en particulier de celles qui se trouvent à l'état colloïdal.

5° *Colloïdes cellulaires et pression osmotique.* — On sait que les colloïdes organiques sont susceptibles de contracter, avec les électrolytes, des combinaisons que la plupart des auteurs considèrent comme des combinaisons d'adsorption. Les cellules contiennent des colloïdes, en particulier des protéiques, qui peuvent entrer dans des combinaisons de ce genre. MOORE et ROAF ont porté leur attention sur le rôle que ces complexes, qu'ils nomment ions-protéiques, pourraient jouer dans les échanges. Ils pensent que ces ions-protéiques ont une pression osmotique, sont capables d'attirer de l'eau. Leurs variations — dépendant des ions présents dans le milieu — rendraient compte des échanges d'eau entre la cellule et le milieu.

6° *Colloïdes cellulaires et imbibition.* — Du moment qu'on réfléchit aux propriétés des colloïdes cellulaires, il y a toute une catégorie de mouvements de l'eau auxquels on doit penser et qui se réalisent sans que l'existence d'une membrane paraisse les conditionner. CHEVREUL, LUDWIG, etc., ont montré, il y a bien longtemps que, si l'on plonge dans l'eau des substances desséchées comme les tendons, la vessie, etc., ces substances se gonflent considérablement. Ce pouvoir d'absorber l'eau est si grand, que LUDWIG put déterminer la cristallisation d'un sel en introduisant une vessie sèche dans une solution presque saturée de ce sel. On a déduit de ce fait l'existence d'une force : la pression d'imbibition, et on a essayé d'en déterminer les lois; on a étudié, par exemple, la vitesse de l'imbibition (formules de LUDWIG, d'HOFMEISTER, etc.), le dégagement de chaleur qui l'accompagne (WIDEMANN et LUDEKING, PASCHELES, etc.).

Il se trouve que les recherches modernes sur les colloïdes ont éclairé ces anciens faits d'un nouveau jour.

On sait que toute une catégorie de colloïdes sont stables ou lyophiles, c'est-à-dire capables de contracter, avec leurs solvants, une liaison énergique; et l'on sait que c'est précisément sur cette propriété qu'est basée la distinction entre gels et sols. Or, la cellule contient précisément des colloïdes stables ou lyophiles.

Un certain nombre de chercheurs ont considéré que ce fait constitue une nouvelle et importante condition limitative du mouvement de l'eau indépendante de l'existence d'une membrane. Ils ont appliqué aux colloïdes cellulaires tout ce qu'on sait de la liaison des colloïdes organiques avec l'eau. En ce qui concerne en particulier les électrolytes, on sait, par les recherches d'HOFMEISTER, de V. HENRI et A. MAYER, de BILTZ, de PAULI, de SPIRO, etc., comment ils agissent soit par leur

concentration, soit par la nature de leurs ions sur les colloïdes organiques « stables » ou hydrophiles, notamment pour les précipiter. Ils peuvent agir de même sur les colloïdes cellulaires et déterminer ou empêcher leur précipitation, c'est-à-dire modifier leur liaison avec l'eau. Par cela même, ils peuvent influencer le mouvement de l'eau tout autrement que par leur pression osmotique. C'est le point de vue auquel se place BOTTAZZI; c'est aussi celui de MARTIN FISCHER. Cet auteur admet que les colloïdes contenus dans les cellules absorbent plus ou moins d'eau, suivant les électrolytes présents dans ces colloïdes ou dans le milieu. Parmi les électrolytes, il attribue un rôle prépondérant aux ions H, dus, selon lui, le plus généralement, à la présence d'acide lactique. Quoi qu'il en soit de cette dernière hypothèse, il n'en est pas moins vrai que la position de MARTIN FISCHER est représentative de la façon dont un certain nombre de chercheurs envisagent aujourd'hui le problème du mouvement de l'eau. Ils ont dégagé une nouvelle condition limitative, la présence des colloïdes dans la cellule. Ils en ont déduit l'existence d'une nouvelle force motrice; la pression d'imbibition, force à coup sûr importante, que les recherches sur la pression osmotique avaient fait négliger.

Pour notre part, nous ne pensons pas que le fait que nos connaissances sur la pression osmotique sont fort avancées, tandis que nous ne savons que peu de chose sur la pression d'imbibition, doive nous faire rejeter l'idée que celle-ci peut jouer un grand rôle dans les échanges organiques. Bien au contraire, nous avons toujours pensé qu'elle mérite une étude approfondie.

Les différentes idées directrices que nous venons de passer en revue peuvent toutes avoir leur utilité comme hypothèses de travail. L'avenir montrera quelle est la plus féconde.

De cet exposé rapide ressort, toutefois, avec netteté, l'impression que c'est bien un mécanisme de mouvement, que les auteurs ont cherché à saisir, que c'est par un côté dynamique qu'ils ont abordé le problème de l'eau cellulaire.

Teneur des cellules en eau et constantes cellulaires

Mais n'y a-t-il que cette manière d'aborder le problème? Doit-on, nécessairement, le considérer par son côté dynamique? Quand on s'occupe de l'eau des organismes, la question des échanges, de la circulation de l'eau entre la cellule et son milieu, est-elle la seule qui se pose? N'y en a-t-il pas d'autre et ne peut-on se placer à un autre point de vue?

C'est ce que nous allons examiner, en nous laissant guider par les idées directrices qui ont orienté nos recherches.

Constantes cellulaires. Equilibres cellulaires

Ces idées nous les avons résumées en quelques propositions.

CONSTANTES CELLULAIRES. — 1° *Les cellules contiennent des constituants permanents et dont la proportion ne varie pas dans de larges limites.*

Cette proposition implique que la fixité du type cellulaire est basée sur la fixité de la composition. Elle ne signifie d'ailleurs pas que les constituants cellulaires sont invariables, mais seulement que, s'ils sont absorbés, détruits ou rejetés au cours des échanges, le régime de ces variations est tel que la proportion des constituants demeure à l'état normal à peu près la même. Cette idée nous mène donc à analyser les cellules des différents tissus et à constater s'il y a dans chaque tissu des constituants cellulaires permanents et assez fixes, dont les proportions sont *des constantes cellulaires* du tissu considéré.

2° *Les cellules des différents types diffèrent entre elles en premier lieu par les proportions différentes de leurs constituants communs.*

Cette idée nous conduit à comparer les analyses faites sur les divers tissus, à constater si certains éléments se retrouvent dans tous, si certains sont particuliers à tels ou tels tissus. Il est clair qu'il y a des éléments communs à toutes les cellules vivantes. On sait, pour beaucoup d'entre eux, et nos premières constatations sur les lipoïdes nous confirment dans cette idée, qu'ils y sont en proportions différentes suivant le type considéré. Telle quelle, notre deuxième proposition nous mènerait à différencier les cellules par les proportions de leurs constituants communs. Si nous avions dressé la table complète de ces constituants, nous aurions construit *une biométrique chimique cellulaire* importante en elle-même. Mais nous n'aurions pas été plus loin. Une troisième proposition permet de faire un pas de plus.

Si un constituant chimique déterminé a, hors de la cellule, et considéré en lui-même, une propriété physico-chimique donnée, il la conserve dans la cellule. Il en dote donc l'édifice cellulaire, et cela pour autant qu'il y est contenu. Une propriété physico-chimique donnée sera par conséquent présentée par une cellule dans la mesure où elle contiendra le constituant cellulaire constant qui la détermine. Et nous pourrons dire :

3° *Chaque constituant grée la cellule des propriétés physico-chimiques qui lui sont propres; et cela, précisément dans la mesure où il y est lui-même présent.*

Equilibres cellulaires. — Des propositions qui précèdent, une autre découle immédiatement. Il y a des constantes cellulaires et elles se maintiennent à peu près invariables tant que la cellule est vivante; les constituants constants conservent dans la cellule leurs propriétés. Or, certains constituants chimiques de la cellule ont nécessairement des propriétés opposées. Pour que la cellule se maintienne stable, il faut donc que ces propriétés s'équilibrent; sans cela, la cellule se dissocierait. Nous exprimerons donc d'abord que :

4° *L'existence de la cellule implique un équilibre entre chacun de ses constituants permanents et tous les autres.* Mais nous venons de le voir, les propriétés physico-chimiques des constituants les suivent dans la cellule. Nous dirons donc que :

5° *Les propriétés physico-chimiques de chacun des constituants cellulaires permanents sont en équilibre avec celles de tous les autres.* Les réactions cellulaires, ou ensemble des propriétés physico-chimiques générales de la cellule, expriment la liaison entre tous ces équilibres particuliers.

Enfin nous avons vu (3°, 2° partie) que la grandeur des propriétés physico-chimiques apportées par chaque constituant cellulaire dépend de sa proportion

dans la cellule. Or, ces propriétés peuvent ou bien n'être pas additives, ou bien s'ajouter ou se retrancher. Dans ce dernier cas, les propriétés de la cellule sont la somme algébrique de celles de ses constituants. Cette somme est différente d'un type cellulaire à l'autre. Donc :

6° *Les cellules des divers types présentent des réactions communes et les présentent inégalement. Cette inégalité dépend de la proportion relative des constituants cellulaires communs présents dans les cellules de chaque type considéré.* Elle exprime la différence entre les états d'équilibre réciproque de ces constituants.

Ainsi donc, supposons que nous ayons dressé une table complète des constituants chimiques cellulaires permanents, des constantes cellulaires. D'une part, connaissant les proportions de tous les constituants, sauf un, nous pourrions prévoir la proportion de celui-ci dans la cellule. D'autre part, connaissant les propriétés physico-chimiques de chacun de ces constituants et sa proportion dans une cellule donnée, il serait facile d'écrire des équations permettant de prévoir, en grandeur et en signe, les propriétés physico-chimiques de cette cellule elle-même.

Sur la biométrique chimique que nous posséderions, il serait facile d'édifier une statique physiologique.

Remarquons que ce point de vue nous donne une position particulière dans le conflit qui a divisé jusqu'ici naturalistes et physiologistes. Les uns, frappés de la variété des formes, ont constamment attiré l'attention sur la spécificité des cellules, sur leurs propriétés particulières. Les autres, au contraire, ont maintenu l'idée de propriétés communes à toutes.

Ils ont exprimé cette idée, en disant avec Dastre qu'il y a un protoplasma qu'on retrouve sous toutes les formes comme un même métal fondu dans des moules divers.

Notre position est différente. Nous disons, nous, comme les naturalistes, qu'il y a des protoplasmas, et, comme les physiologistes, qu'ils ont quelque chose de commun. C'est qu'il y a des constituants communs à tous les protoplasmas : ce sont eux qui créent les propriétés communes; mais ces constituants sont en proportion variable, et c'est ce qui détermine l'ordre de grandeur de ces propriétés. De plus, ces constituants sont en équilibre entre eux, et c'est ce qui donne leur réaction propre aux différents types cellulaires, expression de ces équilibres. Et, comme les constituants sont nombreux, que leurs propriétés sont multiples, la diversité possible est considérable.

Pour reprendre la métaphore citée plus haut, le protoplasma est un alliage de divers métaux, toujours les mêmes, qu'un fondeur habile peut marier en proportions presque illimitées.

Teneur en eau des cellules et constantes cellulaires

Ces idées nous permettent d'examiner le problème de la teneur en eau des cellules sous un angle nouveau.

En effet, l'eau n'est pas qu'un véhicule, un milieu dans lequel se font les réactions cellulaires, c'est un constituant protoplasmique fondamental. Or, on con-

sidère comme possibles les échanges d'eau, et on cherche à en déterminer le mécanisme. On ne se demande pas entre quelles limites ces échanges sont physiologiquement possibles. Si les limites sont étroites, s'il y a un régime des échanges, tel que la teneur des cellules en eau reste peu différente d'elle-même aux divers moments, n'aura-t-on pas là un fait de nature à retenir l'attention? Si, de plus, les diverses cellules ont une teneur en eau constante pour chaque type, mais variable d'un type à l'autre — le milieu intérieur étant le même pour toutes — ne pourra-t-on penser que cette teneur dépend des facteurs présents en quantités inégales dans les différents types cellulaires?

Autrement dit, au lieu de considérer le problème dynamiquement, ne peut-on pas l'aborder d'une façon en quelque sorte statique? étudier les conditions d'équilibre de l'eau, non ses conditions de mouvement? Ce point de vue, en accord avec ce que nous avons exposé plus haut, est celui auquel nous nous sommes placés.

Si l'étude complète des constantes cellulaires était faite, si nous avions une table des proportions des principaux constituants du protoplasma pour chaque espèce cellulaire, il nous serait très facile de voir d'emblée avec quels constituants la teneur en eau est en rapport direct. Malheureusement, nous n'avons seulement que quelques éléments de cette table. Pour notre part, nous n'avons étudié jusqu'ici que les constituants lipoïdes de cellules. Mais il se trouve que justement une de leurs propriétés physico-chimiques les plus frappantes concerne leur liaison avec l'eau. Dans l'ensemble ils représentent une classe de corps qui ne sont pas miscibles avec l'eau. C'est même la seule propriété qui excuse la réunion de corps aussi divers en une classe générale. Cette propriété, ils la conservent là où ils se trouvent. Pour voir comment elle joue dans la cellule, il faut donc d'abord savoir où ils sont placés, dans le corps cellulaire, et, d'une façon plus générale, comment se comportent, dans le protoplasma, les divers constituants chimiques.

Constitution physico-chimique du protoplasma

Les constituants chimiques du protoplasma se groupent en trois classes : protéiques, hydrocarbonés, lipoïdes. De ces classes, tout le monde est aujourd'hui d'accord pour dire que les protéiques et les hydrocarbonés de réserve (glycogène) sont à l'état colloïdal. Ils subsistent dans le protoplasma à l'état de complexes colloïdaux, comme nous l'a montré toute une série de recherches. Les complexes albuminoïdes, maintenus en état de solubilité réciproque, ont avec l'eau une forte liaison et sont, le plus souvent, à l'état de gels. Pour ce qui est des lipoïdes, au contraire, on sait que s'ils sont mis purs, en suspension, dans l'eau ils constituent des émulsions à gouttelettes plus ou moins fines. Mais en présence de protéiques et d'électrolytes, nous avons montré qu'ils peuvent participer à la formation de complexes, faire, eux aussi, partie intégrante de gels. Il est facile de prouver que le fait se trouve réalisé dans les organismes. Il suffit d'éclairer latéralement du sérum d'anguille et du sérum de cobaye pour voir qu'ils sont également transparents, qu'ils présentent le même aspect optique. Or, nous avons montré que l'un contient environ 1 gramme de corps gras par litre, tandis que

l'autre en contient 26 grammes, dont 6 grammes de cholestérine insoluble dans l'eau et fondant à 147°. Pourtant, ce dernier ne présente pas la moindre lactescence; ce n'est pas une émulsion, il est « optiquement vide ». Les complexes colloïdaux de protéiques et de lipoïdes que nous avons réalisés *in vitro* peuvent donc bien exister dans les organismes et exister à l'état de gels.

Structure du protoplasma

Ceci posé, comment se représenter la structure du protoplasma, mélange en proportions diverses de ces éléments constituants? Les classiques admettent que le protoplasma comprend une trame albuminoïde qu'ils figurent sous forme de granulations, de filaments ou de réseaux laissant entre eux des lacunes. Cette théorie repose exclusivement sur l'examen des précipités obtenus par les procédés de fixation histologique; comme l'ont montré les recherches de Hardy et nos propres études ultramicroscopiques, les granules, filaments, réseaux sont précisément les formes que prennent les gels albuminoïdes au cours de la précipitation. Et nous avons pu faire voir que le protoplasma a en effet toutes les propriétés d'un gel négatif. L'examen ultramicroscopique direct des cellules vivantes confirme cette manière de voir. Par exemple, chez un grand nombre d'animaux unicellulaires, en dehors des parties différenciées et des inclusions, le protoplasma apparaît comme homogène, optiquement vide (Fauré-Fremiet). Nous avons employé l'expression de « gel protoplasmique » pour désigner cette partie indifférenciée du cytoplasma.

Dans ce gel protoplasmique, quelle est la place des lipoïdes? La plupart des expérimentateurs, considérant les lipoïdes comme des *réserves* et non comme des constituants protoplasmiques permanents sont disposés à croire qu'ils sont des *inclusions*. Mais, dans beaucoup de cellules, on ne voit ni inclusions graisseuses, ni granulations biréfringentes. Et pourtant l'analyse y décèle des lipoïdes. Ceux des chercheurs qui, comme Overton attribuent un rôle aux lipoïdes dans le mécanisme des échanges, les localisent dans la membrane cellulaire périphérique. Les recherches que nous avons faites dans ces dernières années nous conduisent à une conception différente.

Les cytologistes ont décrit sous le nom de motochondries des granulations ou filaments répartis dans le protoplasma de presque toutes les cellules vivantes animales ou végétales.

Une longue série d'études nous a permis de nous convaincre que ce *chondriome* est constitué pour la plus grande partie par des éléments lipoïdes. Ainsi une grande part des lipoïdes cellulaires se trouve non à la périphérie de la cellule ou localisée en des vacuoles, mais bien à l'intérieur du protoplasma. Sous quelles formes s'y trouvent-ils à l'état frais? Ce que nous avons vu des complexes d'albuminoïdes et de lipoïdes nous permet d'affirmer qu'ils peuvent se trouver mélangés d'une façon parfaite au gel protoplasmique. Dans ce cas, ils n'en seraient séparés que par les réactifs employés pour les déceler. Mais, la stabilité des complexes colloïdaux dépendant de la réaction du milieu, de sa concentration en cristalloïdes, de la nature des ions présents, on peut prévoir qu'il sera possible de trouver dans les

cellules des différents types tous les intermédiaires imaginables entre le gel optiquement vide et les diverses formes de précipités. On peut donc trouver les lipoïdes soit mêlés au gel, soit dans les granulations cellulaires existant à l'état vivant. Tout dépend des conditions de milieu. La structure du protoplasma nous apparaît comme résultant de l'équilibre entre tous ses éléments constituants, y compris l'eau qui est le plus important de tous par la masse : l'aspect morphologique des cellules dépend, à notre avis, de cet équilibre cellulaire réalisé entre les constituants. Dans une large mesure, la morphologie cellulaire est conditionnée par la composition cellulaire. Les lipoïdes peuvent donc être soit mêlés au gel, soit partiellement précipités : mais, en tout cas, ils sont pour une grande part intra-protoplasmiques.

Hypothèse directrice sur le rôle des lipoïdes dans l'imbibition

Cet exposé très rapide de la conception que nos recherches nous ont conduits à nous faire du protoplasma, montre assez qu'elle diffère de la conception classique. Il est naturel qu'elle influe sur la façon dont nous nous représentons la liaison du protoplasma avec l'eau. En effet, pour nous, on n'a pas épuisé toutes les conditions limitatives de cette liaison quand on a dit qu'il existe une membrane et, derrière elle, des colloïdes et des électrolytes dissous en solution dans l'eau. Une cellule nerveuse contient 30 p. 100 de lipoïdes, une cellule du foie en contient 10 p. 100. Les hématies 1 p. 100. *A priori* ces différences ne peuvent pas être sans importance sur la liaison de leurs protoplasmas respectifs avec l'eau.

Quel est, dans ce cas, le rôle des lipoïdes? Si l'on s'en tient aux notions courantes, on remarque immédiatement que les composés d'acides gras et les substances insaponifiables ne sont pas miscibles avec l'eau. Même les plus simples d'entre eux, les savons, ne donnent pas de solutions vraies, mais des solutions colloïdales.

D'ailleurs, dans la littérature, on a souvent exprimé l'idée qu'il existe un rapport entre la teneur en eau d'organismes entiers et leur teneur en graisse. Mais dirons-nous que les lipoïdes en bloc doivent diminuer ou empêcher la liaison du protoplasma avec l'eau? Nous avons vu que, lorsqu'il considère la membrane, Overton imagine que quelques lipoïdes, les cires et la cholestérine, empêchent la liaison du protoplasma avec l'eau, tandis que les phosphatides sont capables de s'émulsionner, de se gonfler (Thudicum)? Transporterons-nous cette conception du rôle des différents lipoïdes, de la membrane au protoplasma tout entier? Nous ne croyons pas devoir le faire.

En effet, même si l'on admet que les phosphatides et les composés d'acides gras donnent des émulsions stables, il n'en reste pas moins que leur liaison avec l'eau est moins grande que celle des albuminoïdes. En fait, ce sont eux qui constituent l'obstacle à la pénétration de l'eau dans le gel. Considérée seule, la cholestérine, plus encore que les autres lipoïdes, doit, comme le pense Overton, s'opposer à la pénétration de l'eau.

Mais il se trouve que ce corps a, en outre, une propriété fort importante, sur laquelle il faut attirer l'attention. On sait depuis longtemps que les laines brutes

non dégraissées sont susceptibles de retenir des quantités d'eau considérables. Cette propriété est due au suint, et on la retrouve, après raffinement de ce produit, dans la lanoline. C'est, en partie, à cette propriété qu'on doit l'introduction de cette substance en pharmacologie. Quoique l'étude chimique de la lanoline ne soit pas encore complète, on sait qu'elle contient de la cholestérine et des alcools analogues ainsi que leurs produits d'oxydation. On a pu montrer que c'est à ces composés qu'est due sa propriété d'absorber de l'eau. Les dermatologistes, et notamment Unna, ont montré depuis longtemps que, si on incorpore de la cholestérine à des corps gras non miscibles avec l'eau, elle leur donne la faculté de s'imbiber de ce liquide. Des expériences récentes de Lifschutz et de ses élèves Schreiber et Lénard ont montré que l'oxycholestérine permet d'obtenir des émulsions extrêmement stables de corps ne se mélangeant pas plus avec l'eau que les corps gras, les hydrocarbures (vaseline).

Si la cholestérine est présente dans toutes les cellules — et on l'a trouvée jusqu'ici dans toutes les cellules vivantes animales et végétales, — nous pensons que cette propriété doit partout l'accompagner.

Nous devons donc en tenir compte dans notre hypothèse directrice.

Cette hypothèse est la suivante. On peut considérer schématiquement le protoplasma comme composé de corps miscibles et de corps non miscibles avec l'eau. Parmi les premiers, si nous ne tenons pas compte des électrolytes, les plus abondants sont les protéiques. Parmi les seconds, nous retiendrons les composés d'acides gras à poids moléculaire élevé considérés globalement et la cholestérine. Ainsi, le protoplasma nous apparaîtra comme un mélange de quatre constituants : albuminoïdes, composés d'acides gras, cholestérine, eau; et nous admettrons que ces corps sont en équilibre stable. Quelles sont les proportions nécessaires de ces corps pour que cet équilibre soit réalisé?

Notre hypothèse est celle-ci : si un gel albuminoïde ne contenait en plus de l'albumine, que de la cholestérine, celle-ci, insoluble dans l'eau, diminuerait donc la liaison de la masse totale avec l'eau, et d'autant plus qu'il y aurait plus de cholestérine. De même, plus un gel albuminoïde contiendra de combinaisons d'acides gras à poids moléculaire élevé, moins il sera susceptible de se laisser imbiber par l'eau. Mais la cholestérine et les composés d'acides gras sont réciproquement solubles; et le mélange cholestérine + composés d'acides gras qui résulte de cette solubilité réciproque est pénétrable par l'eau. La résistance à l'imbibition due aux corps gras devra donc se trouver corrigée du fait de la présence de cholestérine. Dès lors, plus un gel albuminoïde mêlé de composés d'acides gras contiendra de cholestérine, moins la restriction de l'imbibition due aux corps gras sera marquée et plus le gel s'imbibera d'eau. Nous devons donc trouver une relation entre la quantité d'albuminoïdes, la quantité de cholestérine, la quantité de composés d'acides gras, le rapport $\left(\frac{\text{cholestérine}}{\text{acide gras}}\right)$ ou coefficient lipocytique, d'une part, et l'imbibition des cellules par l'eau, d'autre part.

C'est à l'aide de cette hypothèse directrice que nous avons abordé la question de la teneur en eau des cellules vivantes.

X

RECHERCHES SUR LA TENEUR DES CELLULES EN EAU

(avec G. Schaeffer) (142, 155)

I. — Teneur des tissus vivants en eau et teneur en lipoïdes

Nous avons vu que l'eau est inégalement répartie entre les différents tissus; on peut donc en dresser un tableau où on les ordonne par rapport à leur teneur en eau. Si, d'autre part, on dresse un tableau des coefficients lipocytiques des tissus $\left(\frac{\text{cholestérine}}{\text{phosphore lié aux lipoïdes}}\right)$ on constate qu'il existe un remarquable parallélisme entre les deux tableaux. L'imbibition des tissus par l'eau est d'autant plus grande que le rapport $\left(\frac{\text{cholestérine}}{\text{phosphore lipoïdique}}\right)$ est plus grand. Voici un tableau de ces rapports qu'on pourra comparer aux tableaux des imbibitions p. 81.

Espèce animale.	Rapport $\frac{C}{AG} \times 100$.					Rapport $\frac{C}{P}$.				
	Sérum.	Poumon.	Rein.	Foie.	Muscle.	Sérum.	Poumon.	Rein.	Foie.	Muscle.
Chien	29	20,0	10,5	6,8	2,2	10,64	4,44	2,29	1,44	1,55
Lapin	20	17,1	13,3	8,4	7,3	22,5	4,12	2,83	1,63	1,41
Cobaye	22	15,1	7,8	6,5	1,6	39,0	3,20	1,70	1,07	1,00
Pigeon	»	24,1	9,8	7,9	1,6	»	3,86	2,34	2,49	0,81
Anguilles	22	11,2 (branchies)	7,1	3,8	0,7	4,60	»	2,44	5,10	3,3

Il y a donc là une première confirmation de l'hypothèse que nous avons exposée dans le chapitre IX.

II. — Imbibition des tissus par l'eau « in vitro » et teneur en lipoïdes de ces tissus

Pour étudier cette question nous avons employé une méthode déjà utilisée par plusieurs auteurs et qui consiste à mesurer l'imbibition de fragments de tissus

plongés dans divers liquides. Les recherches d'Overton, Fletcher, Laugier et Bénard avaient montré que dans de pareilles conditions les tissus se gonflent jusqu'à une certaine limite; puis que ce gonflement s'arrête; et ensuite diminue. Nous avons cherché à mesurer, non pas comme nos prédécesseurs, la vitesse de gonflement mais bien l'imbibition maxima. Cette méthode est grossière mais la critique expérimentale que nous en avons faite montre qu'elle donne cependant des résultats comparables entre eux et parfaitement utilisables.

A) Influence de la température. — Toutes les mesures doivent être faites à la même température; nous avons reconnu en effet qu'on peut étendre à tous les tissus une remarque faite par Hoberisser et Schönfeld. Ces auteurs, étudiant le gonflement du tendon de bœuf dans l'eau ont vu que l'imbibition est d'autant plus forte que la température est plus basse. Nous croyons que cette donnée est très importante. On sait en effet, que la température agit différemment sur les phénomènes physiques et sur les réactions chimiques (lois de Le Chatelier et de Van T'Hoff). Au cours de ces dernières années, de nombreux expérimentateurs (Loeb, Snyder, Herzog, Aberson, Kanitz, Abegg, etc.), ont essayé, en étudiant l'action de la température sur tel ou tel phénomène physiologique, de déterminer s'il est d'ordre physique ou chimique. Dans d'assez nombreux cas, la réponse n'a pas été nette. Il est intéressant de penser que, chaque fois que l'imbibition a pu être mise en jeu, son action intercurrente a pu être de nature à fausser les résultats, puisque la température agit sur elle à l'inverse de ce qu'elle fait sur les autres phénomènes physico-chimiques.

B) Hémolyse des globules rouges par l'eau. — On sait que les globules rouges s'hémolysent en abaissant suffisamment la concentration moléculaire du milieu. Bien que l'hémolyse soit un phénomène complexe, et plus même qu'on ne l'a dit jusqu'ici, on peut grossièrement considérer que l'imbibition par l'eau est le facteur principal qui la détermine. Dès lors les globules rouges sont un bon objet d'étude de l'imbibition par l'eau.

Nous pouvons en effet, nous demander si, placés dans des solutions salines de concentration décroissante les globules ne s'hémolyseront pas pour une concentration qui sera en rapport avec leur coefficient lipocytique; les globules à forts coefficients étaient les plus fragiles, les globules à faibles coefficients les plus résistants à l'hémolyse par l'eau.

Un certain nombre d'auteurs, en particulier Rywosch, avaient déterminé l'ordre de résistance des différents globules et nous avons retrouvé cet ordre. Soit qu'on prenne comme test de résistance l'hémolyse commençante, soit qu'on prenne l'hémolyse totale, soit qu'on prenne l'étendue des concentrations entre lesquelles on passe de l'une à l'autre, l'ordre de résistance est le suivant : Mouton, Porc et Cheval, Bœuf et Lapin, Chien, Cobaye, Poule.

Quand on compare cet ordre avec celui des coefficients lipocytiques on voit que (sauf exception pour le cobaye), il est, pour les six autres espèces globulaires, le même. Nous pouvons donc dire dans l'ensemble que les globules sont d'autant plus hémolysables par l'eau que leur coefficient lipocytique est plus fort.

C) Imbibition maxima des tissus plongés dans l'eau distillée. — L'imbibition

des tissus plongés dans l'eau distillée est plus forte que dans l'organisme. Mais si l'on compare l'imbibition maxima des différents tissus chez un même animal, on constate qu'ils conservent l'ordre d'imbibition relative qu'ils avaient dans l'organisme. De plus l'accroissement de l'imbibition est proportionnel au coefficient lipocytique. Dans l'ensemble, les tissus plongés dans l'eau pure s'accroissent d'autant plus que leur coefficient lipocytique est plus élevé.

	Chien.	Lapin.	Pigeon.	Anguille.	Cobaye.	Rat.
Poumon	1 222	928	»	»	»	»
Rein	678	829	576	»	»	»
Foie	418	508	478	»	431	»
Muscle	421	560	341	»	»	»
Hépato-pancréas	»	»	»	451	»	»
Cerveau	»	»	»	»	»	1 719

Si l'on examine des tissus pathologiques dans lesquels, comme nous le verrons plus loin, le coefficient lipocytique a varié, on constate que l'imbibition de ces tissus n'est pas la même que celle du tissu normal et qu'elle est proportionnelle au coefficient lipocytique. On peut donc aller plus loin et se demander s'il est possible d'établir une relation numérique entre l'imbibition des tissus par l'eau et leur coefficient lipocytique. Pour chercher cette relation numérique, on peut se servir des considérations suivantes : l'eau constitue la plus grande partie des tissus. Dans une large mesure, elle détermine leur volume. Si la teneur en eau est proportionnel'e au coefficient $\left(\frac{\text{cholestérine}}{\text{acides gras}}\right)$, l'inverse de ce coefficient mesure une pression, une tension [1] qui, s'opposant au gonflement, détermine le volume. Entre les nombres primant ces grandeurs, il peut exister une relation approchée de la forme de la loi de Mariotte :

$$\text{Eau d'imbibition} \times \left(\frac{\text{cholestérine}}{\text{acides gras}}\right) = \text{une constante.}$$

1. Il ne s'agit pas forcément de tension superficielle, la tension dont nous parlons pouvant être pour une tension d'origine centrale.

Voici les calculs faits dans ce sens :

Tissu.	Eau retenue par 1 gramme de tissu sec.		Coefficient lipocytique.		C.
Lapin (7 expériences)					
Poumon	9,28	×	5,8	=	60,1
Rein	8,29	×	7,5	=	62,1
Foie	5,09	×	11,9	=	60,4
Muscle	5,70	×	13,6	=	76,9
Chien (8 expériences)					
Poumon	12,22	×	5	=	61,10
Rein	6,78	×	9,5	=	64,41
Foie	4,18	×	14,7	=	61,44
Muscle	4,21	×	43,5	=	183,13
Pigeon (5 expériences)					
Rein	5,75	×	11,10	=	62,2
Foie	4,78	×	12,6	=	60.3
Muscle	3,41	×	58	=	197
Anguille (4 expériences)					
Hépatopancréas	4,51	×	15,2	=	68,5
Muscle	3,94	×	30,3	=	119,38
Cobaye (4 expériences)					
Foie	4,31	×	1,53	=	65,9
Rat (6 expériences)					
Cerveau	17,19	×	4,5	=	77,3

On voit que toujours — sauf le cas du muscle [1], et si l'on tient compte de ce que

1. L'exception pour le muscle du chien cesse, si on fait le calcul, non plus en employant le coefficient $\left(\frac{\text{cholestérine}}{\text{acides gras}}\right)$, mais le coefficient $\left(\frac{\text{cholestérine}}{\text{phosphore lipoïdique}}\right)$.

$$\text{Imbibition maxima} \times \frac{\text{P. lipoïdique}}{\text{cholestérine}} = \text{C.}$$

Poumon	12,22 × 0,225 = 2,74
Rein	6,78 × 0,435 = 2,94
Foie	4,18 × 0,690 = 2,68
Muscle	4,21 × 0,645 = 2,71

L'exception s'atténue pour le muscle du pigeon :

$$3{,}41 \times 1{,}14 = 3{,}88$$

Tout se passe donc comme si dans le muscle une certaine quantité d'acides gras, comptant dans le dosage, n'influençait pas les phénomènes d'imbibition.

la méthode qui a permis d'obtenir ces nombres a d'imprécis — la concordance pour les valeurs trouvées de C n'est pas mauvaise.

On est donc fondé à penser qu'il existe une relation de la forme suivante :

« Toutes choses égales d'ailleurs, un tissu plongé dans l'eau pure s'imbibe proportionnellement à son coefficient lipocytique. »

Cette relation, sous cette forme, n'est évidemment qu'une première approximation. Elle comporte des exceptions, comme celles que présentent certains muscles. Telle quelle, cependant, elle montre déjà bien l'importance de la teneur en lipoïdes des tissus comme condition de leur teneur en eau. Elle indique que cette condition persiste, *in vitro*, après la mort; que les lipoïdes agissent donc bien ici par leurs propriétés physico-chimiques les plus simples.

D) Teneur des tissus en lipoïdes. Action des électrolytes et imbibition par l'eau. — Puisque la teneur des tissus en lipoïdes influe tellement sur la teneur des tissus en eau, on est en droit de se demander si les conditions jusqu'ici étudiées par les expérimentateurs et considérées comme déterminant cette teneur sont complètement indépendantes de ce nouveau facteur; ou si au contraire ce nouveau facteur ne contre-balance pas leur action en quelque manière. Nous avons étudié deux de ces conditions : la concentration totale en électrolytes et le rôle de certains ions.

1° *Teneur des tissus en eau, teneur en lipoïdes et concentration du milieu.* — Lorsque l'on plonge des tissus dans des solutions salines de concentration croissante, on devrait s'attendre, si la pression osmotique ou telle autre force dépendant uniquement de la concentration moléculaire en électrolytes jouait seule, à voir les tissus prendre toujours de l'eau dans les solutions hypotoniques et en perdre toujours dans les solutions hypertoniques.

C'est du moins ce qu'on enseignait en généralisant aux tissus les résultats des expériences d'Hamburger sur les globules rouges. Or, les faits montrent qu'il n'en est rien. Même dans des solutions extrêmement concentrées (NaCl à 120 p. 100) certains tissus *continuent à s'imbiber d'eau*. Il se trouve que ceux qui s'imbibent encore le plus dans ces solutions sont ceux dont le coefficient lipocytique est le plus élevé : cerveau et poumon.

De plus, si on mesure les imbibitions maxima de tissus plongés dans des solutions de concentration croissante, qu'on porte en courbe les valeurs de ces imbibitions maxima pour chaque concentration, étant donné que la teneur en sels des différents tissus n'est pas très différente, les courbes d'imbibition devraient être sensiblement parallèles : or, il n'en est rien. L'imbibition maxima des tissus en passant de l'eau pure à des solutions salines de plus en plus concentrées diminue d'autant plus que leur coefficient lipocytique est plus élevé. Ainsi la teneur en eau doit dépendre de l'interaction des deux facteurs : concentration moléculaire du milieu; teneur des tissus en lipoïdes.

2° *Teneur en eau des tissus, teneur en lipoïdes et rôle spécifique des ions.* — En examinant, non plus la concentration moléculaire totale, mais l'action de tel ou tel ion sur l'imbibition des tissus, on constate qu'un ion donné n'agit pas également sur tous les tissus. Par exemple, l'imbibition maxima du muscle est d'autant plus

forte que le milieu est plus acide, tandis que celle du cerveau, du poumon, du foie, du rein est d'autant moins forte. De même on considère communément que la solution de RINGER est un liquide qui conserve aux tissus leurs propriétés physiologiques et c'est pour cela qu'on s'en sert pour faire des circulations artificielles. Or, l'expérience montre que, seul, le muscle conserve, dans le liquide de RINGER, l'imbibition qu'il avait dans l'organisme. Tous les autres tissus s'y imbibent d'eau. Il y a là un fait dont on n'a pas jusqu'ici, suffisamment tenu compte. Aussi avons-nous examiné isolément l'action des différents ions contenus dans le liquide de RINGER.

Quand on plonge des fragments de tissus dans des solutions équimoléculaires de chacun des électrolytes qui entrent dans la constitution de ce liquide et qu'on répète l'expérience pour des concentrations croissantes on constate :

1° Que l'imbibition des tissus varie avec la concentration du milieu et, dans l'ensemble, quel que soit l'électrolyte, diminue avec elle, phénomène bien connu;

2° Que les différents ions agissent inégalement sur un même tissu pour diminuer son imbibition maxima par l'eau, phénomène bien connu encore. Mais, de plus, on constate un rôle particulier de chacun des électrolytes, un rôle propre des ions examinés sur chaque tissu. Par exemple, si on compare les imbibitions maxima en présence d'électrolytes à basse concentration (N/11,5 ou N/8,2), on voit que le muscle est plus imbibé dans KCl que dans NaCl, dans NaCl que dans $CaCl^2$, tandis que le poumon au contraire est plus imbibé dans $CaCl^2$ que dans KCl, et dans KCl que dans NaCl.

L'action des ions peut être assez importante pour inverser l'ordre relatif d'imbibition des tissus. Par exemple dans $CaCl^2$ le cerveau est plus imbibé que le poumon; dans NaCl, il l'est moins, etc. Le rôle du calcium paraît particulièrement intéressant. Si on mesure son action restrictive en la comparant à celle des autres ions, on voit que, dans le cas du poumon, le calcium restreint moins l'imbibition que K ou Na; pour le foie, l'action restrictive des trois ions est à peu près équivalente. Enfin, pour le rein, le muscle et surtout le cerveau, l'action empêchante du Ca est très marquée et de plus en plus forte sur ces tissus dans l'ordre où nous venons de les énumérer.

Cette action des différents ions est-elle en rapport avec la composition des tissus en lipoïdes? Nos expériences sont insuffisantes pour répondre définitivement à la question. Mais il semble bien qu'il en soit ainsi, au moins pour une part. En effet, quand on examine l'action imbibitrice du Ca sur l'imbibition, on voit que cette action paraît se marquer davantage sur les tissus riches en acides gras, et dans lesquels le rapport $\left(\frac{\text{acides gras}}{\text{cholestérine}}\right)$ est le plus fort : cerveau, muscle; inversement, elle est moins marquée sur le poumon dans lequel ce rapport est faible. Ce fait est d'ailleurs en rapport avec ce qu'on sait de la précipitabilité des lipoïdes (action des ions bivalents sur les phosphatides; insolubilité des savons de chaux). Le calcium aurait — entre certaines limites de concentration — pour effet de diminuer la liaison des lipoïdes et par suite celle du gel protoplasmique avec l'eau.

D'une façon plus générale, si un certain équilibre des cathions est indispensable pour que la teneur des tissus en eau ne varie pas, il semble que cet équilibre

ne doit pas être le même pour tous les tissus, qu'il doit être en rapport avec leur composition et notamment leur composition en lipoïdes.

Donc, soit que l'on considère la concentration du milieu en électrolytes quels qu'ils soient; soit que l'on considère chacun d'eux en propre, — quand il s'agit de leur influence sur la teneur en eau des tissus, il nous paraît impossible de ne pas tenir compte de la composition de ces tissus, et en particulier de leur teneur en lipoïdes. Le facteur que nous avons dégagé ne nous paraît pouvoir être négligé dans aucun cas. Et nous pensons que son action se fait sentir dans un grand nombre de cas où on n'en a pas tenu compte jusqu'ici.

Ainsi, l'eau est une *constante cellulaire*. Elle est inégalement répartie entre les tissus. Recherchant si, *in vivo* cette répartition est en rapport avec les proportions des lipoïdes cellulaires, cholestérine et composés d'acides gras, nous avons montré qu'il en est bien ainsi en général. Il semble même que le plus souvent la répartition de l'eau entre les tissus est fonction de ces proportions.

Le même phénomène se retrouve *in vitro*, soit qu'on étudie l'hémolyse, soit qu'on étudie l'imbibition par l'eau des tissus normaux ou anormaux.

Et enfin, quand on examine l'action des électrolytes sur la teneur en eau des cellules, les résultats constatés semblent être dus non pas à leur action seule, mais à une interaction entre les électrolytes et la composition des tissus, notamment en lipoïdes.

Nous pouvons donc, pour ce qui est de l'eau, affirmer que dans les cellules sa proportion dépend de celle des autres constituants, ce qui s'accorde entièrement avec notre hypothèse directrice.

Tous les résultats que nous venons d'exposer ont été étendus et confirmés par les auteurs qui se sont depuis occupés de la question; notamment par Weisberger et par Fontes qui en ont fait l'objet de leurs thèses. Ce dernier auteur a étudié des mélanges synthétiques contenant des corps lipoïdes et retrouvé sur ces mélanges tous les faits que nous avions observés sur les cellules.

XI

TENEUR DES TISSUS EN LIPOÏDES ET ACTIVITÉ PHYSIOLOGIQUE OU PATHOLOGIQUE DES TISSUS

(158, 159, avec G. SCHAEFFER, 165)

I. — Teneur des tissus en lipoïdes et activité physiologique

Si une cellule normale peut être définie par les conditions d'équilibre de son protoplasma, l'activité cellulaire normale doit dépendre de cet équilibre. La proportion des constituants fondamentaux, des cellules et des tissus doit être différente : 1° chez les animaux d'activité dissemblable; 2° chez un même animal quand on fait varier artificiellement son activité; 3° dans les cas pathologiques.

C'est pour examiner cette question que nous avons entrepris les recherches dont nous allons donner le résumé qui ont porté surtout sur les constituants lipoïdes des tissus.

A) HOMÉOTHERMES, HIBERNANTS, POÏKILOTHERMES. — Si nous prenons le terme d'activité physiologique dans son sens le plus général, si nous le faisons synonyme d'intensité des échanges, c'est-à-dire, en dernière analyse, des oxydations, nous pouvons séparer les animaux en trois groupes. Les uns, héméothermes, maintiennent toute l'année égale leur activité; les hibernants ont une activité très dissemblable l'été et l'hiver; les animaux à sang froid sont poïkilothermes, leur activité est variable suivant les conditions extérieures du milieu.

Y a-t-il dans la composition chimique de leurs tissus, notamment dans leur teneur en lipoïdes et dans leurs équilibres cellulaires, quelque chose de corrélatif de ces variations?

Homéothermes. — Nous venons de voir, dans les chapitres précédents que la teneur des tissus en lipoïdes, notamment des lipoïdes phosphorés, varie peu autour d'une valeur constante.

Hibernants. — Il n'en va pas du tout de même chez les hibernants. Nous avons expérimenté chez des marmottes prises, soit au cours de leur sommeil d'hiver, soit au printemps après leur réveil. Les analyses montrent que les variations des constituants cellulaires chez la marmotte sont bien plus considérables que celles qu'on peut constater chez un homéotherme de même taille comme le lapin. Par exemple si l'on examine la concentration des tissus en phosphore lipoïdique total, on constate que celle du foie varie de 0,144 à 0,205; celle du rein de 0,092 à 0, 161; celle du poumon de 0,097 à 0,188.

De plus, ces variations dépendent d'oscillations saisonnières. Le maximum paraît être atteint après le réveil.

Il faut ajouter que des acides gras engagés dans les graisses neutres paraissent pouvoir s'accumuler dans les tissus et y former de véritables réserves, ce qu'on n'observe pas chez le chien ou le lapin. Il se produit là un phénomène analogue à celui dont nous avons montré l'existence en étudiant les effets du gavage chez l'oie. La teneur en acides gras des tissus ne varie pas seulement d'un individu à l'autre; elle est soumise à de grandes variations saisonnières; le minimum paraissant être atteint au commencement de l'été chez les animaux conservés à Paris et nourris; le maximum au début de l'hibernation (novembre-décembre).

Ajoutons, enfin, que dans tous les tissus et en particulier dans le foie, la teneur en eau, fixe, chez les homéothermes, est ici très variable.

Poïkilothermes. — Dès nos premiers travaux sur la teneur des tissus en lipoïdes, nous avions signalé que les écarts entre les valeurs observées chez les différents individus dans une même espèce étaient bien plus grands chez les vertébrés à sang froid que chez les Mammifères; qu'on n'obtenait jamais de valeurs de même ordre de grandeur que chez les animaux soumis à un jeûne prolongé. Enfin chez l'anguille, nous avions noté des variations saisonnières.

Dastre, Athanasiu, Carnot et Deflandre, Polimanti, etc., avaient publié des analyses de tissus d'animaux à sang froid. Dans notre laboratoire, Mlle Jeanne Weill a repris la question en étudiant pour une série d'espèces la composition des tissus aux diverses époques de l'année. Elle a montré que pour certains tissus cette composition est tout à fait variable.

Que ces variations de compositions dépendent des conditions extérieures, c'est ce qu'on peut montrer expérimentalement. Voici, par exemple, la teneur en phosphore lipoïdique du foie de la Grenouille placée dans différentes conditions de température.

Teneur en phosphore lipoïdique du foie des grenouilles

	Sexe.	Nombre d'individus.	Eau pour 100 grammes de tissu frais.	Phosphore lipoïdique pour 100 grammes frais.
Début de février :				
Exposées au dehors . . .	Mâles.	2	»	0,083
	Mâles.	2	71,41	0,088
	Femelles	2	77,48	0,065
Fin de février :				
Au laboratoire (15° et 18°).	Mâles.	6	73,45	0,102
	Mâles.	6	»	0,097
	Mâles.	6	»	0,108
	Mâles.	6	72,23	0,132
	Femelles	6	77,23	0,132

	Sexe.	Nombre d'individus.	Eau pour 100 grammes de tissu frais.	Phosphore lipoïdique pour 100 grammes frais.
	—	—	—	—
Mars :				
8 jours à la glacière + 2°.	Mâles	5	77,41	0,097
	Mâles	5	75,78	0,097
	Mâles	5	»	0,098
8 jours à l'étuve à 23°.	Mâles	6	73,85	0,101
	Mâles	6	»	0,103
8 jours à l'étuve à 24°.	Males	3	»	0,144
3 jours à l'étuve à 26°.	Mâles	2	»	0,196

B) Variations d'activité des tissus chez les homéothermes. — Chez les homéothermes eux-mêmes l'activité est normalement toujours à peu près égale. Mais on peut artificiellement faire varier cette activité. Par exemple, on peut refroidir brusquement un Mammifère et l'obliger à se réchauffer; ou bien encore lui donner la fièvre.

1° *Réaction des homéothermes contre le refroidissement.* — Le mode de réchauffement des divers Mammifères a fait l'objet de nombreuses études de la part des physiologistes; on sait que les uns, comme le chien, se réchauffent surtout par des mouvements musculaires (frisson thermique étudié par M. Richet); les autres, comme le lapin, suivant un processus où la suractivité du foie serait prédominante (Lefèvre).

Nous avons étudié comment la lutte contre le refroidissement, dans ces deux espèces, est corrélative de modifications de composition des tissus.

Quand on abaisse la température d'un de ces animaux au-dessous de 28° il ne réagit plus et devient incapable de se réchauffer. Dans ces conditions, la teneur des tissus en lipoïdes varie peu ou s'abaisse légèrement.

Lorsqu'on n'abaisse la température qu'aux environs de 30°, l'animal réagit et se réchauffe. On constate alors les phénomènes suivants :

a) *Lapin.* — Dans le poumon, la teneur en acides gras, phosphore lipoïdique et cholestérine augmente.

Dans le foie, au début de la réaction, la teneur en acides gras s'abaisse parfois un peu; la concentration en phosphore lipoïdique s'abaisse notablement (de 0,142 à 0,080 par exemple). A la fin de la réaction, la concentration en phosphore lipoïdique augmente considérablement (jusqu'à 0,190, chiffre analogue à celui qu'on trouve chez la marmotte qui se réveille). Le lendemain de l'expérience tout revient à la normale.

b) *Chien.* — On constate dans le foie des variations importantes. Il s'agit d'une augmentation considérable de la concentration en phosphore lipoïdique qui peut passer de 0,145 à 0,194.

Quand, au lieu d'abaisser brusquement la température de l'animal, on l'expose à une température extérieure très froide et qu'il est obligé de maintenir sa tempé-

rature au prix d'une suractivité considérable, on constate des modifications de composition de ces tissus du même ordre que les précédents.

2° *Excitation par la chaleur : fièvre.* — Lorsqu'on soumet un homéotherme à l'action de la chaleur, on sait qu'à partir d'une certaine température on augmente l'activité des tissus et que la température de l'animal s'élève. Nos expériences sur le lapin et sur le chien montrent que, dans ces conditions, chez le lapin, la teneur en acides gras et en phosphore lipoïdique du poumon et du foie augmente; que chez le chien la teneur en phosphore lipoïdique du foie augmente.

Si telle est l'action de l'excitation thermique forcée (fièvre physiologique), on peut se demander quelle est l'action de la fièvre qu'on peut provoquer par injection de toxines, par exemple : les expériences faites sur le lapin et le cobaye montrent que chez les animaux sacrifiés pendant la période de réaction, la concentration en phosphore lipoïdique du foie est notablement augmentée. Elle diminue au cours de l'hypothermie prémortelle.

Ainsi nous voyons que, chez les animaux à sang chaud, les variations des équilibres protoplasmiques sont à l'état normal très étroites; chez les hibernants et les poïkilothermes, elles sont beaucoup plus larges. Usant d'un néologisme, nous avons dit que *les homéothermes sont « homéochymes », les poïkilothermes, « poïkilochymes ».*

Chez les homéothermes eux-mêmes, l'activité cellulaire est corrélative de modifications de la teneur des constituants fondamentaux des cellules et de variations des équilibres cellulaires.

II. — Modification des équilibres cellulaires dans les cas pathologiques (165)

Les résultats antérieurs nous ont montré que les variations d'activité physiologique des tissus sont corrélatives de variations de composition, de modifications de l'équilibre cellulaire. Ces modifications sont réversibles. La question se pose de savoir si les troubles permanents d'activité des tissus ne sont pas corrélatifs de variations irréversibles des équilibres cellulaires.

Pour répondre à cette question, nous avons fait une série de recherches. A la vérité, on pourrait se contenter d'examiner les cas où l'histologie révèle des lésions cellulaires et de faire dans ces cas l'analyse chimique des tissus. Mais il est plus probant de faire porter l'examen sur les cas où il est possible de mesurer le déficit fonctionnel dû aux lésions et de comparer les résultats de ces mesures à ceux des analyses.

C'est ce que nous avons essayé de faire pour le rein avec Ambard, Rathery et Schaeffer. Nous avons étudié systématiquement des animaux chez qui nous pratiquions un examen fonctionnel par la mesure de la constante uréo-sécrétoire et de la concentration maxima à laquelle ils pouvaient éliminer l'urée. Nous sacrifiions ensuite ces animaux et nous cherchions la composition du tissu rénal en lipoïdes.

Nous avons reconnu que dans les cas où l'état fonctionnel du rein est très mauvais et où l'histologie décèle des lésions graves, la teneur en lipoïdes phosphorés est toujours de beaucoup inférieure à la normale. Dans les cas où l'atteinte fonctionnelle est moins forte on trouve encore une diminution, mais moins considérable.

XII

RECHERCHES SUR LES MITOCHONDRIES

Les travaux d'OVERTON et de ses continuateurs avaient vivement attiré l'attention sur le rôle que les lipoïdes peuvent jouer dans les échanges cellulaires; ces auteurs pensaient que les lipoïdes se trouvent localisés dans la membrane limitante de la cellule.

De notre côté, nous trouvions que des lipoïdes et en particulier les lipoïdes phosphorés se trouvent être un des constituants fondamentaux du protoplasma. Fallait-il penser que ces corps qui peuvent constituer jusqu'à 10 p. 100 du poids sec des cellules parenchymateuses ne se trouvent qu'à la périphérie de la cellule? Nous ne l'avons pas cru.

Or, parallèlement à nos études sur la constitution physico-chimique du protoplasma et sur les constantes cellulaires, nous avions mené une longue série de recherches d'histophysiologie sur les cellules glandulaires (notamment sur celles du rein et du foie). Elles conduisaient à des conclusions de nature à éclairer cette question. Nous voulons parler de nos recherches sur les granulations ou mitochondries.

On sait que des granulations ou des filaments colorables par coloration vitale (violet dahlia) avaient été vus dans les cellules par VON LAVALETTE SAINT-GEORGES dès 1867 et par KUNSLEN en 1882. En 1886 et surtout en 1890, ALTMANN employant une méthode de coloration nouvelle avait décelé dans toutes les cellules parenchymateuses des granulations caractéristiques : il leur avait attribué le rôle d'organismes élémentaires à l'intérieur de la cellule. Les recherches d'ALTMANN, frappées de discrédit, étaient tombées dans l'oubli le plus complet quand, en 1897-1899, BENDA, employant des méthodes nouvelles, retrouva les granulations et les filaments vus par ALTMANN et leur donna le nom de *mitochondries.*

Dès 1902, RATHERY, avait signalé l'existence de granulations de ce genre dans le rein.

Au cours de nos recherches sur les modifications histologiques du rein pendant l'élimination, publiées en commun avec lui en 1906, nous avions décrit et figuré ces granulations et longuement étudié leur sort dans les différents états fonctionnels du rein. La méthode de REGAUD utilisée par lui et par FAURÉ-FREMIET, MAWAS, POLICARD, DUBREUIL, ayant permis de déceler les mitochondries dans toutes les cellules glandulaires; NAGEOTTE, MEVES, DUESBERG, ayant retrouvé ces formations dans toutes sortes d'autres cellules, on aboutit à l'idée qu'elles existent dans toutes les cellules vivantes. En 1907, NAGEOTTE décrivait les mitochondries des cel-

lules nerveuses et Fauré-Fremiet celles des protozoaires. En 1908, Rathery décrivait dans la cellule hépatique des granulations tout à fait du même ordre que celles que nous avions étudiées dans le rein; et contre les auteurs qui avaient décrit *l'état clair* comme l'état normal de la cellule hépatique montrait au contraire que *l'état granuleux* était l'état de la cellule normale.

Si les granulations font partie de la structure normale du protoplasma des glandes, toute lésion de ces organes doit amener une modification de ces granulations, c'est ce que nous montrions bientôt. Nous avons d'abord étudié les phénomènes de cadavérisation de façon à éviter de prendre pour des altérations ce qui n'était qu'un processus *post mortem*. Puis nous avons montré en 1908 que lorsqu'on lèse le rein ou le foie par des injections d'acides gras, de savons ou d'éthers, d'acides minéraux, d'organes broyés ou bien encore lorsqu'on laisse des animaux à l'inanition absolue, on constate des lésions dans le foie et le rein; elles sont caractérisées par la disparition progressive des granulations dans les cellules des tubes contournés, phénomène auquel Rathery avait, dès 1902, donné le nom de *cytolyse*. Le processus se poursuivait progressivement et pour la commodité de la description Rathery l'avait divisé en trois stades, indiquant une lésion de plus en plus marquée. Ainsi les granulations, normalement présentés dans le protoplasma, se trouvaient modifiées quand celui-ci était lésé.

Quelle était la nature de ces granulations dont les recherches venaient de montrer l'existence et les réactions pathologiques?

Opérant sur les infusoires, Fauré-Fremiet, en 1908, montrait que ces mitochondries se gonflent sous l'action des anesthésiques et des solvants des graisses et se trouvent fixées par l'acide osmique. Nageotte faisait une constatation analogue sur les mitochondries des cellules nerveuses; à la suite de ces faits, Fauré-Fremiet était conduit à penser qu'elles pourraient renfermer des corps de nature lipoïde. Regaud, qui avait imaginé une méthode générale de mise en évidence des mitochondries, admettait que sa méthode agissait sur les matières lipoïdes; il montrait que la myéline se colore par cette méthode.

Nous étions arrivés de notre côté à la même hypothèse, mais sa vérification demandait une étude systématique et approfondie. Cette étude est celle que nous avons poursuivie pendant six années en collaboration avec Fauré-Fremiet, Rathery, Schaeffer, Mulon.

I. — **Microchimie des corps gras** (119, 124, 125, 153)

Nous avons fait avec Fauré-Fremiet et Schaeffer une longue série d'expériences sur la microchimie des corps gras. Après une critique des méthodes classiques, nous avons nous-mêmes fait un grand nombre d'expériences sur certains acides gras, savons, éthers, sur la glycérine, la lécithine, la myéline, la céphaline, les corps céphaloïdiques, le protagon et le cerebron et enfin la lanoline et la cholestérine. Nous avons recherché si on pouvait caractériser microchimiquement ces corps lipoïdes simples et complexes.

Nous avons d'abord examiné les méthodes directes de caractérisation et nous nous sommes demandé si les caractères de solubilité, de précipitabilité, de colorabilité de tous ces corps étaient suffisants pour permettre de les reconnaître.

Solubilité. — Nous avons reconnu que l'étude de la solubilité des corps gras permet bien, à la vérité, de s'orienter parmi eux; elle est cependant incapable d'apporter une certitude parce que, en résumé :

1° Les insolubilités ne sont jamais absolues;

2° Elles changent complètement quand on est en présence de mélanges;

3° Dans les réactions microchimiques, la quantité de solvant est toujours tellement grande par rapport à celle du corps à dissoudre que, même quand la solubilité n'est que faible, on peut toujours avoir une dissolution.

Précipitabilité. — Ici encore on ne peut avoir que des renseignements imprécis. En effet dans les cas où l'on est en présence de mélanges, de combinaisons d'absorption d'albumines et d'acides gras, de complexes de lipoïdes et d'albumine, la précipitabilité des corps gras par certains sels de métaux lourds change tout à fait.

Colorabilité. — Ayant construit une échelle de coloration pour un ensemble de colorants, nous avons fait un grand nombre d'essais d'où il résulte que les caractères de colorabilité peuvent donner de très utiles renseignements; mais ces renseignements ne peuvent être acceptés sans critique. D'abord parce que la composition de plusieurs colorants usuels est inconnue, qu'il en résulte des discordances inexplicables entre les diverses expériences; ensuite parce que le mécanisme même de la coloration des corps gras n'est pas élucidé dans tous les cas : c'est parfois une simple dissolution du colorant dans le corps gras; c'est parfois une adsorption du colorant, c'est dans certains cas une véritable combinaison chimique. Il faut ajouter que les colorants dits spécifiques des corps gras ont des propriétés beaucoup trop générales pour permettre des différenciations.

Méthodes histologiques complexes. — Mais les histologistes possèdent des méthodes qui leur permettent de mettre les corps gras en évidence. Nous avons fait une étude de ces méthodes complexes et nous avons montré qu'elles peuvent se ramener à l'un des trois processus suivants :

1° Précipitation d'un albuminoïde et du corps gras qu'il renferme et coloration par un procédé quelconque;

2° Formation d'un savon métallique quelquefois coloré, puis d'une laque d'hématoxyline;

3° Oxydation d'un corps gras, contenant un acide à double liaison et coloration par un colorant quelconque;

4° Formation d'une combinaison halogénée avec un acide à double liaison.

On voit aussitôt que le défaut essentiel de ces méthodes réside dans leur beaucoup trop grande généralité, rien n'étant moins spécifique que la présence d'une liaison éthylénique par exemple.

II. — Composition chimique des mitochondries
(113, 114, 115, 135, 136, 149, 150)

A) Caractères physico-chimiques des mitochondries. — Nous avons d'abord essayé de voir si les caractères de solubilité, de précipitabilité ou de colorabilité des mitochondries les rapprochent des corps gras. On peut conclure de cette étude que les faits semblent apporter des présomptions en faveur de cette idée.

Pour aller plus loin, nous avons pensé qu'il serait intéressant de rechercher si le principe même des méthodes qui permettent aux histologistes de mettre les mitochondries en évidence ne nous éclairerait pas sur leur nature. Nous avons donc essayé de savoir par quels mécanismes elles agissent.

B) Mécanisme de l'action des méthodes dites mitochondriales. — L'étude de ces méthodes nous a montré qu'elles utilisent toutes trois sortes de corps.

1° Le formol. Ce corps n'est jamais employé seul pour la précipitation des mitochondries; on lui associe toujours soit simultanément, soit successivement, quelque réactif oxydant. Cependant cette aldéhyde exerce une action évidente sur la fixation des mitochondries. Or, nos recherches antérieures nous ont montré que les acides gras peuvent entrer en combinaison d'adsorption avec les albuminoïdes et que d'autre part, les phosphatides peuvent former avec l'albumine des complexes colloïdaux identiques aux lécithalbumines de Lieberman. Dans un tel complexe, l'albumine garde quelques-uns de ses caractères de précipitabilité, cependant qu'elle emprunte aux corps gras quelques-uns des leurs; de telle manière que le complexe se trouve réunir les propriétés de ses deux constituants. On sait que l'albumine est précipitée par les aldéhydes et nous avons vérifié que les complexes phosphatide-albumine le sont aussi. La lécithine du complexe ainsi formé est très difficilement soluble dans l'alcool et très colorable. Le mécanisme de l'action du formol peut donc ainsi s'expliquer.

2° D'autres méthodes utilisent l'action des sels de métaux lourds; le mécanisme de leur action peut s'expliquer par la formation d'un savon de métal. Généralisant cette idée, nous avons pu montrer qu'un grand nombre de métaux qui sont des précipitants énergiques des phosphatides sont de très bons fixateurs des mitochondries.

3° Mais les méthodes les plus importantes, les plus employées, pour mettre en évidence les mitochondries, forment un troisième groupe. Nous avons montré que toutes ces méthodes reposent sur l'action d'un agent oxydant. Généralisant cette idée nous avons d'ailleurs pu insolubiliser, fixer les mitochondries par de nombreux liquides contenant des réactifs oxydants qui n'avaient pas été employés dans les méthodes classiques : par exemple, les permanganates, les persulfates, le sulfate de manganèse associé au peroxyde d'osmium, etc.

Nous avons examiné quel est le mécanisme de l'action de tous ces corps oxydants et nous avons montré qu'ils exercent une action sur des acides gras non saturés. Cette action consiste à fixer un oxhydrile sur leur liaison éthylénique. Il s'agit là d'un phénomène analogue à celui qui a été étudié par Lorrain Smith,

Mayr et Thorpe, lorsqu'ils ont examiné l'action du trioxyde de chrome et des bichromates sur la myéline. Le résultat de l'action est la formation d'oxyacides, peu solubles dans l'alcool froid et qui prennent directement les colorations dites mitochondriales.

Les caractères de solubilité des mitochondries, leur colorabilité après fixation mais surtout le principe même des méthodes de fixation qui ont servi à les mettre en évidence peuvent donc s'expliquer par ce fait qu'elles sont constituées, au moins en partie, par des corps gras. On peut même aller plus loin et dire que ces corps ne sont vraisemblablement ni des savons, ni des graisses neutres. Etant donné leur transformation par oxydation, l'acide qu'ils contiennent doit être un acide gras non saturé. Tout se passe comme s'il s'agissait d'un acide gras absorbé par un albuminoïde ou d'un granule constitué au moins partiellement, par un complexe d'albuminoïde et de lipoïde.

Peut-on aller plus loin encore, apporter une preuve plus directe de la nature des mitochondries, préciser leur composition? Nous avons tenté d'abord en étudiant avec Fauré-Fremiet et G. Schaeffer, les éléments mitochondriaux du myocarde et, avec Mulon, la microchimie des surrénales; mais c'est surtout la longue étude poursuivie sur la cellule hépatique avec Rathery et Schaeffer, qui nous a permis d'avancer dans la connaissance des éléments mitochondriaux.

III. — Les granulations ou mitochondries de la cellule hépatique

(109, 116, 117, 120, 121, 122, 127, 130, 133, 134, 145, 160, 161)

L'existence de granulations dans la cellule hépatique affirmée par Altmann, Sjoring, Arnold, n'avait pas été retrouvée par Bohm et Davidoff, Renault, Bernard et Laederich, Gilbert et Jomier, Ramond, Fiessinger. En employant des fixateurs chromoosmiques, Rathery les remit en évidence. Une étude systématique nous amena à les rapprocher des mitochondries de Benda.

Dès lors ce qu'on peut apprendre des mitochondries du tissu hépatique se trouvant susceptible d'une large généralisation, il y avait intérêt à étudier méthodiquement le chondriome des cellules du foie.

A) Existence, permanence des granulations de la cellule hépatique. — 1° En utilisant les fixateurs chromoosmiques, on peut mettre en évidence, dans le protoplasma de la cellule hépatique, des granulations fuchsinophiles ou mitochondries. Ces formations se retrouvent dans le tissu hépatique de tous les animaux que nous avons examinés : Mammifères homéothermes : homme, chien, lapin, cobaye; Oiseaux : pigeon, oie; Hibernants : marmotte, chauve-souris; Animaux à sang froid : grenouille, tortue; et dans le foie ou l'hépatho-pancréas de la carpe, du brochet, de la truite, de l'anguille, de la murène, du homard.

2° Elles ne sont point une formation passagère représentant une matière de réserve, mais un élément fondamental, toujours présent dans la cellule. Chez les hibernants et les poïkilothermes elles existent à toute époque de l'année et quelle que soit la quantité de réserves présente dans le foie ou l'hépatopancréas. Chez les

homéothermes, elles existent même après un jeûne absolu et prolongé, elles ne sont pas modifiées par le gavage ou la suralimentation. On les retrouve pareilles à elles-mêmes, quel que soit le régime et, notamment, après absorption de diverses graisses neutres, de lécithine, de glycogène ou après une alimentation qui surcharge le foie en glycogène. On les retrouve encore lorsqu'on a fait disparaître le glycogène par tous les procédés expérimentaux connus.

3° Ces granulations sont donc des éléments permanents du protoplasma.

B) Composition des granulations hépatiques. — *Propriétés physiques. Solubilité.* — Elles sont solubles dans certains solvants. Par exemple les granulations du foie sont très solubles dans les alcools éthylique, méthylique, moins dans les alcools supérieurs (caprylique, heptylique et octylique); elles sont solubles dans l'éther ordinaire et l'éther acétique; dans le chloroforme, le tétrachloruro de carbone; solubles dans la pyridine à l'état frais; peu solubles dans le sulfure de carbone et la benzine; insolubles dans l'éther de pétrole; insolubles dans les aldéhydes (formique, étylique, propylique, valérianique), dans les cétones (acétone, méthylèthylcétone, métylpropyl, méthylbutyl, méthylnonyl, éthylpropyl, éthylbutyl, et dipropyl-cétone.

Précipitabilité. — Après l'action des sels de métaux lourds, notamment des sels de mercure, les granulations deviennent partiellement insolubles dans l'alcool, l'éther ou le chloroforme, mais l'insolubilité est beaucoup moins nette qu'après action du formol ou de l'acétone; dans ce dernier cas les granulations sont très peu solubles dans l'alcool et se gonflent seulement par le passage dans le chloroforme.

Propriétés chimiques. — Sous l'action de tous les agents oxydants que nous avons étudiés, elles deviennent insolubles dans l'alcool et le xylol. Une suroxydation les rend de nouveau solubles. D'autre part, ces granulations sont capables de fixer l'iode ou le brome, elles « prennent » le liquide de Gram. Le liquide de Hubl, l'eau de brome, ont sur elles la même action que le Cram. Or, après passage par les mélanges oxydants, les granulations ne prennent plus ni le Cram ni le Hubl.

Réaction des granulations au mélange chromoosmique. — Examinant alors quelle est l'action sur le tissu hépatique des fixateurs chromoosmiques qui mettent les mitochondries en évidence nous avons montré que ces réactifs ont, sur les lipoïdes du tissu hépatique, une action complexe :

a) *Une action hydrolysante.* — Après leur action l'indice de neutralisation des lipoïdes augmente toujours et parmi les acides gras libérés se trouvent précisément les acides gras non saturés.

b) *Une action oxydante.* — L'indice d'iode des acides gras après leur action baisse toujours considérablement.

Cette oxydation a pour effet la formation d'oxyacides : Par exemple l'acide linoléique qu'on peut extraire du foie est transformé par les réactifs chromoosmiques en acides tétraoxystéariques. Or, ces acides sont peu solubles dans l'alcool ce qui explique leur « fixation » au sens histologique du mot, et ils prennent directement les colorations mitochondriales.

D'autre part, certains fixateurs histologiques sont de bons précipitants des

PLANCHE III

La planche III est la reproduction d'aquarelles faites d'après les préparations : ce sont des coupes de foie de lapin, normaux ou aux divers stades de cytolyse et d'homogénéisation. Les préparations étaient fixées au liquide de LAGUESSE et colorées par la méthode de GALEOTTI-FERRATA. La comparaison des préparations avec les reproductions appelle les réflexions suivantes : 1° Fond protoplasmique : il apparaît, notamment sur les figures 1, 5, 6, comme assez homogène ; en réalité, il est plus granuleux, plus grumeleux ; 2° Mitochondries : en outre de la modification de taille, on observe des modifications de colorabilité : à l'état normal, le procédé de coloration employé donne aux mitochondries une tache rouge vif ; elles deviennent violacées au cours de l'homogénéisation.

EXPLICATION DES FIGURES :

Les figures 1 à 7 montrent les divers stades de la cytolyse et de l'homogénéisation.

1. Foie de lapin normal.
2. Homogénéisation, type I, peu accentuée (excitation par la chaleur).
3. Homogénéisation, type II, bien marquée (réchauffement).
4. Homogénéisation, type III, assez marquée (intoxication par la ricine).
5. Cytolyse, type I, peu accentuée (refroidissement).
6. Cytolyse, type II, moyenne (refroidissement).
7. Cytolyse, type III, bien marquée (refroidissement).

Les figures *a* à *e* montrent les divers aspects de la cellule hépatique normale fixée, *in vivo*, par divers liquides fixateurs.

a et *b*, fixation par l'alcool et le liquide de VAN GEHUCHTEN-SAUER ;

c et *d*, fixation par le formol, puis le mélange chromo-osmique ;

e, fixation par l'acétone, puis l'acide perchromique.

Fig. 1

Fig. 2

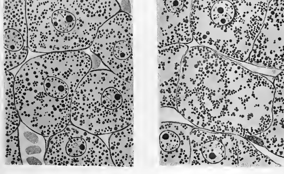


Fig. 5

Fig. 6

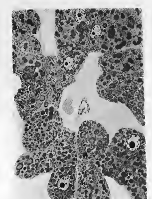


Fig. 3

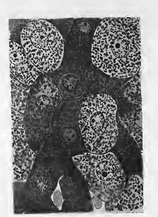


Fig. 4

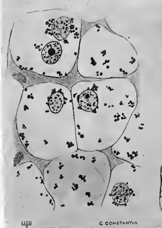


Fig. 7

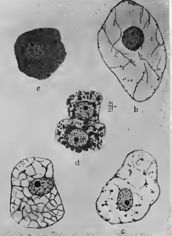


Fig. 8

phosphatides ou des complexes colloïdaux d'albuminoïdes et de lipoïdes. Ils fixent bien les mitochondries; mais alors celles-ci ne sont pas directement colorables par les colorations mitochondriales. Elles le deviennent si on fait agir un mélange oxydant. Tous ces caractères montrent donc que les mitochondries de la cellule hépatique contiennent des acides gras non saturés, vraisemblablement engagés dans les phosphatides, qui se trouvent à l'état de complexes colloïdaux avec des albuminoïdes. Ainsi elles seraient la traduction morphologique d'un des constituants de la cellule, les lipoïdes phosphorés.

L'examen histologique permet-il d'évaluer la quantité de ces phosphatides par la quantité de mitochondries qu'on aperçoit? Une étude quantitative de pièces fixées par différents fixateurs histologiques nous a montré qu'on ne peut pas le faire d'une façon rigoureuse. Mais les examens histologiques peuvent donner des indications approximatives.

Variations des granulations de la cellule hépatique dans l'organisme. — Lorsqu'on introduit dans l'organisme, des acides ou des bases organiques, des anesthésiques, des agents pharmacologiques ou toxiques, les granulations de la cellule hépatique réagissent. Cette réaction se fait toujours suivant l'une ou l'autre des deux modalités auxquelles nous avons donné le nom de cytolyse et chondriolyse d'une part, homogénéisation et chondriomégalie, d'autre part.

Dans le premier mode, nous avons distingué trois stades qu'on trouvera figurés sur nos planches. On voit, sur les coupes fixées, les granulations diminuer progressivement de nombre et finir par disparaître, en même temps que le protoplasma tout entier acquiert une labilité toute particulière.

Dans le second, trois stades aussi ont été distingués. On les trouvera figurés, eux aussi. On voit sur les coupes fixées, les granulations grossir, s'accoler, se fusionner, envahir tout le champ de la préparation et la substance mitochondriale pénétrer le protoplasma tout entier, qui devient homogène et peu labile.

Parallélisme de ces variations avec les modifications chimiques de la cellule hépatique. — Lorsqu'on pratique en même temps l'étude cytologique et l'analyse chimique du tissu hépatique, on est frappé du remarquable parallélisme qui existe entre la réaction des granulations et la quantité des lipoïdes phosphorés existant dans la cellule.

Soit qu'on considère l'action des agents pharmacologiques ou toxiques, soit qu'on étudie le foie au cours des réactions physiologiques extrêmes (jeûne absolu, lutte contre le refroidissement ou l'échauffement forcés), on constate de la cytolyse, en même temps que la concentration de la cellule en lipoïdes phosphorés s'abaisse au-dessous de la normale, et d'autant plus marquée que celle-ci s'abaisse davantage; on constate de l'homogénéisation en même temps que la concentration en lipoïdes phosphorés s'élève au-dessus de la normale, et d'autant plus qu'elle s'élève davantage.

Au point de vue chimique, tous ces faits mènent à l'idée que les granulations sont dans la cellule une expression morphologique des lipoïdes phosphorés que l'analyse y décèle.

Au point de vue physico-chimique, que les lipoïdes ne sont pas uniquement

localisés à la périphérie de la cellule en une membrane, mais intimement liés au protoplasma.

Au point de vue morphologique, que les mitochondries ne sont pas des formations anatomiques fixes, organites dans la cellule, unités élémentaires de la vie, mais un aspect morphologique conditionné par l'équilibre physico-chimique existant dans le protoplasma entre protéiques solubles et lipoïdes peu miscibles avec l'eau.

Au point de vue physiologique, ils conduisent à une hypothèse de travail sur le rôle des mitochondries, rôle général dans les processus d'auto-oxydation dont la cellule est le siège.

XIII

RECHERCHES SUR L'IMMUNITÉ

L'introduction dans l'organisme de microbes, de toxines, de cellules vivantes ou de produits qui en dérivent, provoque des manifestations extrêmement diverses. Cependant, on a pu les grouper sous le nom de phénomènes d'immunité, et présenter une théorie qui les réunisse toutes. Si cette généralisation a été possible, c'est qu'il y a dans tous les phénomènes d'immunité quelque chose qu'on retrouve toujours : l'introduction des « corps antigènes » a, dans tous les cas, pour résultat une certaine modification des propriétés du sang. Le sang (sur lequel des préoccupations d'ordre thérapeutique ont attiré et retenu l'attention des chercheurs), est considéré comme le véhicule de substances néoformées, qualifiées d' « anticorps ».

On peut se demander si, au moins dans les cas les plus simples, une autre explication des phénomènes n'est pas possible et si, au lieu d'invoquer l'existence d'anticorps, on ne pourrait penser que les propriétés nouvelles du sérum sont dues à des modifications des proportions de ses éléments constituants normaux. C'est cette idée qui a guidé nos recherches sur les précipitines et les hémolysines. Elles sont inégalement avancées.

a) *Précipitines.* — A la suite d'une étude sur certaines cytotoxines, nous avons pu montrer le mécanisme de la formation d'une précipitine typique, faire voir de quels éléments du sérum elle dépendait, quel était le mécanisme de son action.

b) Dans le cas des hémolysines, nous nous sommes d'abord heurtés à la question de la « spécificité ». Nous avons cherché à savoir ce que signifiait cette spécificité; nous avons pu montrer qu'elle devait dépendre d'éléments existant en proportions variables dans les différents sérums et les différents globules; et nous avons mis ces éléments en évidence.

c) Dans le cas des hémolysines acquises, nous avons pu montrer que la spécificité devait encore dépendre de certains éléments caractéristiques des globules, mais nous n'avons pas pu les mettre en évidence.

I. — **Cytotoxines** (34, 36, 37)

On sait que Lindemann, Delezenne avaient montré que lorsqu'on injecte dans le péritoine d'animaux sains, une « purée d'organe broyé », le sérum de ces animaux injecté à un individu de l'espèce qui a fourni la purée d'organe, lèse l'organe en question. On a, dit-on, produit une « cytotoxine ».

Avec H. Bierry, nous avons essayé de produire une cytotoxine pour le foie du

chien, en injectant au lapin, non plus une purée d'organe broyé, mais les nucléoprotéides extraites du foie du chien. Dans ces conditions, si on recueille le sérum du lapin préparé et qu'on l'injecte au chien, on observe deux ordres de phénomènes : d'une part, des lésions du foie caractérisées par de la cytolyse du tissu hépatique; et, d'autre part, des troubles fonctionnels : ceux-ci consistent notamment en anomalies du métabolisme des hydrates de carbone. Par exemple, si on fait ingérer à ces chiens du saccharose à la dose de 2 grammes et même de 1 gramme par kilo, les animaux éliminent dans leur urine un mélange de glucose et de lévulose ou de saccharose et parfois les trois sucres. Si on leur fait ingérer du lactose, ils éliminent dans l'urine un poids de sucre égal au tiers ou au quart du poids absorbé : c'est le plus souvent du lactose et du galactose; nous avons pu les caractériser.

II. — **Précipitines** (107)

Nous avions remarqué que les animaux à qui on injecte les organes broyés ou les nucléoprotéides, présentent dans leur sérum non seulement une cytotoxine, mais une précipitine pour l'ovalbumine. Rapprochant ces faits du petit nombre des cas où le sérum de lapin présente naturellement cette propriété, nous nous sommes demandés, G. Schaeffer et moi, s'il n'était pas possible de la faire apparaître à volonté sans recourir aux moyens classiques de l'injection intrapéritonéale d'ovalbumine. Nous avons pu y parvenir, soit en laissant les lapins à l'inanition complète pendant cinq ou six jours; soit en les intoxicant par l'injection répétée d'huile chloroformée; soit en provoquant chez eux l'apparition d'abcès aseptiques par la thérébentine; soit en les soumettant à l'alimentation carnée. Or, tous ces états ont ceci de commun qu'ils sont toujours accompagnés, soit d'une destruction de tissu, soit d'une cytolyse importante dans certains organes. C'est ce que nous ont permis de mettre en évidence des examens histologiques systématiques des organes, en particulier du foie et du rein.

Il y a donc mise en liberté dans l'organisme, de produits d'autolyse. C'est à ces produits que nous avons pensé pour expliquer l'apparition de la propriété précipitante. Nous avons recherché si notamment les acides gras saturés, présents, si fréquemment dans les autolyses aseptiques, ne jouent pas un rôle dans l'apparition de la précipitine. Nous nous sommes d'abord assurés que ces acides injectés à l'animal produisent des lésions de cytolyse du foie et des reins caractéristiques. Puis en opérant aseptiquement, nous avons fait au lapin des injections d'une série d'acides gras. Après injection des acides propionique, butyrique, valérianique, caproïque et oléique, les sérums de lapins se sont montrés nettement préciptants; l'acide caprylique donne une très faible précipitine; les acides chlorhydrique, lactique, succinique, ne présentent pas la propriété précipitante; l'acide acétique donne des résultats inconstants.

La précipitine ainsi obtenue a tous les caractères des précipitines qu'on obtient en injectant l'ovalbumine; notamment le précipité est soluble dans un excès de sérum ou d'ovalbumine et la propriété précipitante disparaît quand on chauffe le sérum à 60°.

Les savons de soude et même les éthers éthyliques des acides gras de la même série injectés au lapin font apparaître la même propriété mais plus faiblement.

Nous nous sommes demandés s'il n'était pas possible de reproduire *in vitro*, ces phénomènes sans passer par l'animal. Notre étude antérieure sur les acidalbumines d'acides gras qui sont précipitants pour l'ovalbumine, nous servait de guide. Nous avons reconnu qu'en ajoutant des acides gras, au sérum normal du lapin, il devient précipitant; et cette propriété disparaît difficilement par chauffage. En ajoutant des savons de soude, la propriété précipitante apparaît plus difficilement, mais elle disparaît bien par chauffage. En ajoutant des éthers éthyliques, le sérum devient toujours précipitant et cette propriété disparaît par chauffage à 50°.

Ainsi : 1° nous avons obtenu une précipitine pour l'albumine et pour elle seulement, en injectant au lapin certains acides gras, leurs savons, leurs éthers; cette précipitine a tous les caractères de celle qu'on obtient en injectant au lapin de l'ovalbumine; 2° il est possible de donner *in vitro* au sérum du lapin cette même propriété précipitante destructible par chauffage, en lui ajoutant directement les mêmes corps chimiquement définis.

III. — Hémolysines (128, 129, 137)

Nous avons examiné successivement le cas des hémolysines naturelles et celui des hémolysines acquises.

A) Hémolysines naturelles. — La spécificité des hémolysines naturelles est-elle absolue? Si elle ne l'est pas, pouvons-nous ordonner les globules d'après leur résistance croissante? Pouvons-nous ordonner les globules d'après leur pouvoir hémolytique croissant?

a) *Résistance globulaire.* — Certains sérums, comme celui du porc, hémolysent les globules d'un certain nombre d'autres espèces. On pourrait en conclure et c'est ce qu'on fait fréquemment, qu'il y a dans le sérum autant d'anticorps que de globules étudiés. Mais nous observons que les différentes espèces globulaires sont *inégalement hémolysées par ce sérum.* Dès lors nous nous demandons si tout ne se passe pas comme s'il n'y avait qu'un seul anticorps, d'une part, et d'autre part entre les différentes espèces globulaires une parenté, un caractère commun. On pourrait donc ordonner les différentes espèces globulaires d'après leur résistance à l'hémolysine du porc. L'expérience donne la série suivante :

« Cobaye, lapin, mouton, cheval, chien, bœuf. »

Or, des sérums d'autres espèces que le porc hémolysent aussi les globules de cette série, par exemple, le sérum de chien. Si l'on cherche l'ordre de la résistance des globules à ce sérum, on trouve :

« Cobaye, lapin, mouton, porc, cheval, bœuf. »

On voit que l'ordre est le même.

On peut généraliser : quel que soit le sérum hémolytique employé, les globules de lapin et de cobaye sont toujours parmi les moins résistants; ceux de cheval et

de mouton le sont moyennement; le groupe résistant contient presque toujours, chien, bœuf et porc.

Il y a donc un ordre naturel de résistance globulaire et, dans l'ensemble, cet ordre est toujours le même, quelle que soit l'hémolysine considérée.

b) *Activité des sérums.* — Comparons l'activité hémolytique de différents sérums sur une même espèce globulaire peu résistante, les globules de cobaye, par exemple. Nous voyons que les pouvoirs hémolytiques des différents sérums sont inégaux. Par exemple, dans le cas des globules de cobaye, on trouve par ordre d'activité croissante : « Cheval, lapin, mouton, chien, chat, bœuf, porc. »

L'ordre d'activité est-il le même quelle que soit l'espèce globulaire considérée? On ne peut répondre immédiatement puisque certains sérums hémolysent toutes les espèces de globules, d'autres certaines seulement. Si nous les comparons entre eux, nous pouvons cependant dresser, le tableau suivant :

Globules :	Hémolysés par les sérums de :				
Porc	»	»	»	»	Chien
Chien	»	»	»	Porc	»
Bœuf	»	»	»	Porc	Chien
Mouton	»	»	Lapin	Porc	Chien
Cheval	»	Ag. bœuf	»	Porc	Chien
Lapin	Ag. chevat	bœuf	Lapin	Porc	Chien
Cobaye	Ag. cheval	bœuf	Lapin	Porc	Chien

(Ag. = agglutination)

Nous voyons donc que lorsqu'un sérum attaque une espèce de globule, il attaque aussi toutes celles qui sont moins résistantes, et cela d'autant plus qu'elles sont placées plus bas dans l'échelle de résistance. L'ordre d'activité hémolytique peut donc aussi bien se tirer du fait que les sérums attaquent inégalement une espèce peu résistante, que du fait qu'ils hémolysent un plus ou moins grand nombre d'espèces.

L'activité d'une hémolysine naturelle sur les globules d'une espèce donnée, dépend donc de deux facteurs : 1° la place qu'occupent les globules dans l'échelle de résistance ; 2° la place qu'occupe le sérum dans l'échelle d'activité.

Peut-on mettre en évidence dans la composition des sérums et des globules, quelque chose de concret qui corresponde à ces différences? Y a-t-il dans la composition des sérums et des globules, des éléments inégalement répartis entre les différentes espèces, éléments qui permettraient de classer en série les sérums et les globules, de façon à pouvoir les comparer aux séries précédentes?

Diverses considérations nous ont amenés à porter notre attention sur les éléments lipoïdes des sérums et des globules. Des très nombreuses analyses de sérums et de globules que nous avons faites, nous pouvons extraire le tableau suivant :

Tableau

Composition du sang en lipoïdes :

Moyennes en grammes pour 100 grammes secs

	Globules.			Sérums.		
Animaux.	Nombre de dosages.	Acides gras.	Cholestérine totale.	Nombre de dosages.	Acides gras.	Cholestérine totale.
—	—	—	—	—	—	—
Cobaye . . .	4	0,822	0,336	5	1,679	0,383
Lapin. . . .	4	0,847	0,313	4	2,472	0,515
Cheval . . .	6	0,862	0,353	7	3,092	0,909
Mouton. . .	6	0,907	0,405	7	2,058	0,909
Bœuf. . . .	12	0,869	0,359	7	2,280	1,132
Porc	8	0,951	0,376	8	2,923	1,292
Chien. . . .	7	1,082	0,332	7	5,238	1,467
Poule . . .	6	1,247	0,373	8	7,469	1,700
Murène. . .	»	»	»	2	9,006	2,411
Anguille . .	»	»	»	2	22,570	6,836

e) Voyons maintenant *quels rapports il y a entre la composition du sang et l'hémolyse par les sérums hétérogènes.* — 1° Nous avons indiqué que les globules des différentes espèces sont inégalement résistants aux sérums hétérogènes. L'ordre de résistance croissante est le suivant : Cobaye, lapin, cheval, mouton, bœuf, porc, chien, poule. Nous disions qu'il devait se trouver dans les globules un élément, un paramètre variant quantitativement dans le même ordre. Nous trouvons au moins un facteur de ce paramètre dans notre tableau. Ce sont les acides gras non volatils.

2° D'autre part, les différents sérums normaux sont inégalement hémolytiques. L'ordre de puissance croissante est le suivant : Cobaye, lapin, cheval, mouton, bœuf, porc, chien ; puis avec des différences, poule, murène et anguille.

Il se trouve dans leur composition un élément au moins variant dans le même ordre, c'est la cholestérine ; c'est donc un des facteurs du paramètre prévu.

Ainsi, pour ce qui est des hémolysines naturelles, on savait que les sérums normaux hémolysent parfois plusieurs espèces globulaires; on admettait pour expliquer ce phénomène, un mélange d'anticorps qualitativement distincts. Nous venons de voir que cette hypothèse compliquée est loin d'être indispensable et que la combinaison de deux facteurs simples, l'un dépendant des glohules, et l'autre des sérums permet d'expliquer tous les cas observés.

B) Hémolysines acquises. — Pour les hémolysines acquises, le fait est plus compliqué. Quand on injecte des globules d'une espèce donnée à un animal d'une autre espèce, on provoque la formation d'un sérum « antiglobules » que l'on admet être spécifique, et qui dissout les globules de l'espèce de ceux qui ont été injectés. En fait, le « sérum anti » hémolyse cependant des espèces globulaires autres que l' « antigène ». Mais on ne pouvait prévoir — son action prédominante sur l' « antigène » dûment constatée — sur quelles autres espèces globulaires il serait encore

actif, ni dans quelles proportions. Ici encore pour expliquer le phénomène, on admettrait un mélange d' « anticorps » qualitativement distincts.

Nous avons montré qu'on peut expliquer tout autrement ce phénomène et prévoir, un « sérum anti » étant préparé pour une espèce donnée, sur quelles autres espèces globulaires il sera actif et quel sera le degré de son pouvoir hémolytique sur ces globules.

1° Le fait qu'en injectant une espèce globulaire donnée on provoque un « sérum anti » pour d'autres espèces globulaires montre qu'il existe un caractère de parenté entre les diverses espèces globulaires « antigènes » ;

2° Cet élément commun entre les globules est inégalement réparti entre les diverses espèces. En effet, si nous prenons comme test les globules de cobaye, par exemple, et que nous cherchions comment les différents « sérums anti » engendrés en injectant au lapin des globules d'espèces diverses agissent sur ces globules de cobaye, nous voyons qu'ils agissent inégalement. Ils se classent en ordre de la façon suivante :

Anticobaye, anticheval, antimouton, antichien, antibœuf, antiporc.

Qu'on nous passe l'expression, tout se passe comme s'il y avait dans les différents « anticorps » plus ou moins « d'anticobaye ». On peut donc classer les « antigènes » suivant la valeur de leur action « anticobaye ».

Or, nous voyons que ce classement des « antigènes » *établit entre les globules des rapports de voisinage qui sont les mêmes que ceux constatés en étudiant leur résistance.*

Prenons maintenant comme test, non plus les globules de cobaye, qui sont les moins résistants de tous, mais ceux du porc, qui sont les plus résistants de tous; et établissons de la même façon que plus haut, l'ordre de l'action des différents sérums anti sur les globules du porc. Nous obtenons la série : antiporc, antibœuf antimouton, anticheval, anticobaye. Nous voyons que cette série est exactement l'inverse de la précédente.

Ainsi, les différents « antigènes » donnent naissance à des sérums qui sont constamment rapprochés de la même façon dans les séries. Il doit donc bien y avoir ce caractère de parenté que nous cherchions entre les antigènes.

3° Ce quelque chose de commun entre les antigènes, comment croît-il, d'une espèce à l'autre? Nous avons vu qu'on peut établir entre les globules deux espèces de parenté. L'une dépend d'un élément commun variable comme la résistance ; l'autre dépend d'un élément commun variable comme le pouvoir antigène. Or, la résistance globulaire croît du cobaye au porc; il faut donc nécessairement que l'élément dont dépend le pouvoir antigène croisse en sens inverse. Alors, en prenant comme test les globules les moins résistants (cobaye), nous n'apercevons pas son action; mais si nous prenons comme test les globules les plus résistants (porc), son action se révèle. Nous sommes donc amenés à penser qu'il y a un élément commun entre les globules antigènes, que cet élément croît quantitativement d'une espèce de globules à l'autre et inversement à l'élément d'où dépend la résistance globulaire.

4° Cette hypothèse rend compte de tous les cas observables. Elle ne permet pas

seulement d'expliquer le cas des globules placés aux extrémités de la série (porc et cobaye) mais même ceux des globules placés au milieu de la série. Ces globules ont, avec ceux situés de chaque côté d'eux, deux espèces de parenté divergentes, en raison des deux éléments communs que nous avons distingués. Par conséquent, un « sérum anti » du milieu de la série doit agir sur les différentes espèces globulaires, d'autant moins qu'on s'éloigne davantage de lui dans un sens ou dans l'autre. L'action de l' « anticorps » doit donc être telle qu'elle présente un maximum au niveau de l'antigène pris comme test, et deux minima aux deux extrémités de la série. C'est ce que nous voyons en effet. Le sérum antimouton agit au maximum sur le mouton, puis moins sur le cobaye et le cheval d'une part, et moins sur le chien, le bœuf et le porc. Le sérum antichien agit au maximum sur le chien, moins sur le cheval et le cobaye d'une part, moins sur le porc et le bœuf d'autre part.

Un sérum antimouton hémolyse (p. 100 de globules)

Globules de mouton
95

Globules de cheval 72	Globules de chien 60
Globules de cobaye 62	Globules de bœuf 52
	Globules de porc 13

Un sérum antiporc hémolyse (p. 100 de globules)

Globules de porc
74

Globules de mouton 48	Globules de chien 26
Globules de cheval 40	Globules de bœuf 16
Globules de cobaye 38	

L'ensemble des actions maximales que nous observons peut s'expliquer par un graphique qui montre bien qu'elles résultent du jeu de deux paramètres, ceux que nous avons dégagés.

L'action d'un sérum hémolytique n'est pas qualitativement spécifique, elle est quantitativement plus ou moins grande sur tel ou tel globule test. C'est une action qui présente un maximum et le maximum dépend du jeu de deux facteurs. Ces deux facteurs, c'est dans les globules qu'il faut aller les chercher à l'origine. L'étude des globules considérés comme test dans l'action des hémolysines naturelles, nous en a fait connaître un d'où dépend la résistance; l'étude des globules considérés comme antigènes nous en a fait connaître un autre, et ces deux facteurs présents dans les globules varient en sens inverse,

Nous sommes donc en possession d'éléments qui nous permettent de comprendre la notion de « spécificité » dans les cas des hémolysines acquises.

XIV

CONTRIBUTION A LA BIOCHIMIE DES MICROORGANISMES. CULTURE SUR UN MILIEU CHIMIQUEMENT DÉFINI. EXTENSION AU CAS DES MICROBES DE LA NOTION « D'ACIDES AMINÉS INDISPENSABLES »

(131, 140, 148, 163)

De nombreux chercheurs ont tenté d'obtenir des milieux chimiquement définis aptes au développement de microorganismes variés : levures ou bactéries.

Les uns, suivant l'exemple de Raulin, ont essayé de composer pour un organisme donné, le milieu nutritif le plus simple qui puisse lui suffire; à déterminer par substitution quels sont les éléments spécifiquement indispensables. C'est ce qu'ont fait pour le bacille tuberculeux Proskauer et Beck, Marie et Tiffeneau. Ou bien encore on a étudié l'adjonction à un milieu simple d'un élément favorisant supplémentaire; par exemple Sauton a essayé l'action du fer ajouté au milieu de culture du bacille tuberculeux.

En étudiant la culture du bacille de Koch, notre but, à Armand Delille, G. Schaeffer, Terroine et moi était tout autre. Nous avons cherché à obtenir non pas un milieu *minimum* mais un milieu *optimum* pour le *bacille tuberculeux*; un milieu présentant tous les caractères du meilleur milieu empiriquement constitué.

Un certain nombre d'auteurs avaient cherché à établir synthétiquement *a priori* des milieux chimiquement définis permettant le développement du bacille de Koch. Lowenstein et Pick, sur un milieu contenant du phosphate de soude neutre, du lactate d'ammoniaque, du chlorure de sodium, de la glycérine et, comme élément azoté, de l'asparagine, n'avaient obtenu que des cultures misérables. Frouin utilisant un milieu contenant des chlorures de sodium, de potassium et de calcium, du phosphate disodique, du phosphate de magnésie, de la glycérine et, comme élément azoté, de la glucosamine et de la sarcosine, n'avait obtenu que des développements tardifs des cultures. Galimard et Lacomme utilisant des milieux contenant des acides aminés, ne signalent aucun résultat positif avec le bacille tuberculeux.

Nous avons tenté d'aborder la question par une voie très différente. Il existe actuellement un milieu, un « bouillon » dont tous les bactériologistes se servent et qui donne d'excellents résultats. Nous avons pensé à partir de ce milieu et à en déterminer les constituants définis indispensables.

Le milieu empirique est ainsi constitué : peptone Chapoteaut, 1 p. 100; NaCl 0,5 p. 100; glycérine, 4 p. 100; le tout dissous dans une décoction de viande de bœuf.

Il fallait d'abord rechercher par voie analytique les substances actives de ce milieu pour pouvoir reconstituer ensuite des milieux synthétiques identiques. Nous avons porté notre attention successivement sur les substances salines, les substances hydrocarbonées et les substances azotées du milieu.

Substances salines. — Elles sont de deux ordres : le chlorure de sodium surajouté et les sels apportés par la peptone et la décoction de viande. Il était inutile de faire une étude à ce sujet puisque nous possédions les recherches de Proskauer et Beck montrant que le bacille se développe sur milieu contenant du chlorure de sodium, du phosphate monopotassique et du sulfate de magnésie.

Mais il fallait déterminer la concentration de l'électrolyte qui donne au milieu sa réaction.

Réaction du milieu. — Le bacille tuberculeux est moins sensible qu'on ne le croit habituellement aux variations de réaction. Il se développe bien en milieu neutre; son développement est meilleur en milieu alcalin, sans présenter de très grandes différences quand l'alcalinité varie entre N/50 000 et N/500. L'optimum semble situé entre N/10 000 et N/1 000. En pratique cette concentration en soude commence à être gênante (précipitation de certains sels, début d'hydrolyse de substances azotées à la stérilisation); il y a donc intérêt à employer une alcalinité plus faible soit Na OH N/25 000.

Hydrates de carbone. — La glycérine est indispensable au développement de la culture; nous n'avons pas été plus heureux que nos devanciers dans nos essais de substitution. Dans un premier groupe d'essais, nous avons tenté de la remplacer par d'autres alcools : alcool éthylique, glycol, érythrite, mannite, dulcite, glucose, maltose, saccharose, amidon soluble. Dans un second groupe d'essais, pensant que la glycérine pouvait être oxydée et consommée par le bacille, nous nous sommes adressés à des corps qu'on peut considérer comme des produits d'oxydation de la glycérine : le glycérose et l'acide tartronique. Enfin, dans un troisième groupe, nous avons employé un corps dans lequel la glycérine est à l'état de combinaison simple, l'acide glycérophosphorique utilisé à l'état de sel de soude, de potasse ou d'ammoniaque. Tous ces essais ont été négatifs. Nous avons alors essayé d'abaisser la concentration habituelle en glycérine (4 p. 100) et obtenu de très bons résultats même avec 0,8 p. 100 de glycérine.

Il existe dans le muscle, à l'état libre, du glucose et de l'inosite, substances qui passent dans le bouillon. Ce sont des éléments très utiles. Le glucose, sans être rigoureusement indispensable, doit toujours se trouver dans les milieux chimiquement définis si l'on veut obtenir une culture abondante.

Substances azotées du bouillon peptoné. — Dans le milieu habituellement employé par les bactériologistes, l'azote a une double origine, la peptone et le bouillon.

A) Préparations diverses. — 1° *Peptone*. — Nous avons tenté d'abord des expériences d'orientation en employant diverses préparations de peptone soit seules, soit additionnées de bouillon. Nous pouvons, en effet obtenir à volonté des préparations : 1° riches surtout en protéoses et en peptones, contenant peu d'acides aminés et d'extractifs; par exemple, la *peptone Chapoteaut* ou la *peptone de Witte*; 2° riches en acides aminés et ne contenant pas de substances extractives, *peptones de soie*; 3° pauvres en acides aminés et contenant des substances extractives : *musculopapaïne-peptone*, ou n'en contenant pas : *ovopapaïne-peptone*; 4° riches en acides aminés, et en substances extractives : *musculotrypsine-peptone*.

Les expériences faites sur des milieux contenant ces peptones montrent : 1° qu'à elles seules toutes les peptones permettent toujours un développement mais dans la plupart des cas extrêmement faible; 2° que quand aux peptones on ajoute des « extractifs » la culture est d'autant plus riche et plus rapide que la préparation employée contient plus d'acides aminés; 3° qu'une préparation qui contient à la fois des extractifs et des acides aminés (c'est le cas de la musculotrypsine-peptone), permet à elle seule un développement remarquable. Les éléments indispensables que paraît apporter la peptone, ce sont donc les acides aminés.

B) Acides aminés. — Nous avons alors cherché quels acides aminés purs pouvaient remplacer la peptone dans le bouillon. Nous avons essayé le glycocolle, la l-alanine, la leucine, les acides aspartique et glutamique, l'asparagine, la l-tyrosine, la phénylalanine, le phénylglycocolle, la cystine.

Nous avons reconnu qu'aucun des acides aminés contenant le noyau aromatique ne permet la culture du bacille; que tous les acides aminés de la série grasse permettent un développement plus ou moins abondant : l'acide aspartique et surtout le glycocolle permettent des cultures extrêmement riches. Un bouillon contenant du glycocolle à 2 p. 100 donne d'aussi beaux résultats que le bouillon peptoné à 10 p. 100. On peut donc remplacer la peptone par un produit parfaitement pur, de constitution simple et, en outre, moins coûteux.

Ajoutons que nous avons cherché si un corps quelconque contenant un groupement NH^2 ne pourrait pas être substitué au glycocolle. Nos essais tentés à l'aide des chlorures d'éthylènediamine, de diamylamine, d'isodiamylamine, d'éthylamine, nous ont donné des résultats négatifs. L'association d'un groupement aminé et d'un groupement carboxylé paraît donc indispensable.

2° *Bouillons*. — Le bouillon apporte des corps puriques, des substances extractives et des acides diaminés. Nous avons essayé de remplacer le bouillon par ces différentes substances.

A) Corps puriques et pyrimidiques. — Nous avons essayé les corps suivants : des amino-purines : guanine et adénine; des oxypurines : xanthine et hypoxanthine; une méthylpurine : la caféine, l'acide urique, l'allantoïne. Nous avons également étudié les dérivés pyrimidiques : alloxane, acide barbiturique, acide cyanurique. Tous nous ont donné des résultats négatifs.

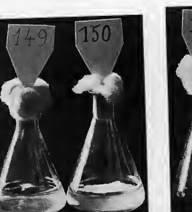
B) Substances extractives. — Nous avons essayé l'action de la créatine, de la carnosine, de la sarcosine, de la carnine, de la guanidine, de la méthylguanidine. Aucune de ces substance, à elle seule, ne peut assurer le développement

PLANCHE IV

CULTURE DU BACILLE TUBERCULEUX SUR MILIEU DÉFINI

I. — ROLE DES ACIDES MONOAMINÉS

(Armand-Delille, Mayer, Schaeffer et Terroine.)



Milieu salin constant

Milieu salin constant
+ Ac. monoaminés.




Milieu salin constant
+ Extractifs.

Milieu salin constant
+ Extractifs
+ Ac. monoaminés.



Milieu salin constant
+ Ac. diaminés.

Milieu salin constant
+ Ac. diaminés
+ Ac. monoaminés

PLANCHE V

CULTURE DU BACILLE TUBERCULEUX SUR MILIEU DÉFINI

II. — ROLE DES EXTRACTIFS

(Armand-Delille, Mayer, Schaeffer et Terroine.)

Milieu salin constant
+ Acides monoaminés.



Milieu salin constant
+ Extractifs.



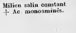
Milieu salin constant
+ Acides monoaminés
+ Extractifs.

PLANCHE VI

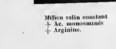
CULTURE DU BACILLE TUBERCULEUX SUR MILIEU DÉFINI

III. — ROLE DES ACIDES DIAMINÉS

(Armand Delille, Mayer, Schaeffer et Terroine.)

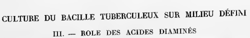


Milieu salin constant
+ Ac monoaminés.



Milieu salin constant
+ Ac. monoaminés
+ Arginine.

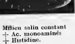


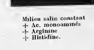






Milieu salin constant
+ Ac. monoaminés
+ Histidine.





Milieu salin constant
+ Ac. monoaminés
+ Arginine
+ Histidine.

du bacille; aucune ne peut être substituée au bouillon. Mais le mélange de plusieurs d'entre elles peut parfaitement remplacer le bouillon; par exemple, le mélange de carnosine, de créatine et de sarcosine.

C) Acides diaminés. — Pour nous orienter dans nos recherches, nous avons d'abord utilisé des substances dans lesquelles les acides aminés se trouvent en proportions très élevées : les protamines. Les expériences faites avec les sulfates de scombrine et de clupéine nous ont donné des résultats remarquables. Passant alors à l'étude des acides diaminés purs nous avons examiné l'action de l'arginine et de l'histidine. L'histidine ne permet pas le développement du bacille; par contre, l'arginine permet un développement rapide et très riche.

Constitution de milieux chimiquement définis. — Partant de ces faits, on peut constituer des milieux chimiquement définis. Tous contiendront, bien entendu, des sels, de la glycérine et présenteront une réaction légèrement alcaline.

En ce qui concerne la première source d'azote, un seul élément suffit, le glycocolle. En ce qui concerne la seconde source on peut s'adresser soit à un mélange d'extractifs (carnosine, créatine, sarcosine), soit à un acide diaminé (arginine).

Aucun de ces groupes ne peut à lui seul permettre le développement cherché. Sur acide monoaminé seul, sur extractif seul, sur arginine seule, on n'obtient qu'une culture extrêmement pauvre. Par contre, le mélange : acide monoaminé plus extractif et le mélange acide monoaminé plus arginine, constituent des milieux de culture qui peuvent être parfaitement substitués aux milieux ordinaires.

Ainsi, s'est trouvé vérifiée synthétiquement par une étude qui a porté sur plus de cent soixante-dix milieux différents, la nécessité établie analytiquement de deux sources d'azote distinctes, indispensables pour un développement régulier du bacille de Koch. Nous avons pu obtenir un milieu contenant simplement deux corps azotés de constitution parfaitement connue et relativement simple dont voici la composition :

Milieu 164

	Grammes.
	—
Eau	1 000
NaCl	5
Phosphate monopotassique	5
Citrate de magnésie	2,40
Glucose	4
Glycocolle	4
Arginine	1,20
Glycérine	40

Réaction : NaOH N/25 000.

Le bacille, cultivé sur ce milieu, pousse normalement et possède toutes les propriétés de la souche employée. On peut le réensemencer un grand nombre de fois sur le même milieu sans voir son activité prolifératrice diminuée. Il présente

les mêmes caractères morphologiques et les mêmes caractères de coloration que le bacille cultivé sur bouillon peptoné. Il est virulent. Le milieu sur lequel il s'est développé contient une tuberculine active. Il ne se différencie donc en aucune manière du bacille ordinaire, et nous avons, par conséquent, le droit de conclure que le milieu 164 peut être parfaitement substitué au bouillon peptoné, qu'il contient les éléments actifs de ce bouillon.

Ces résultats n'ont pas seulement de l'intérêt au point de vue de la biochimie des microorganismes; ils ont une portée plus générale. Les recherches récentes sur la nutrition des organismes supérieurs ont montré que la valeur nutritive des éléments albuminoïdes n'est pas seulement due à leur valeur énergétique ou au fait qu'ils sont une source d'azote. Ils ont une valeur spécifique et on a pu montrer qu'il y a des acides aminés indispensables au maintien de la croissance des organismes supérieurs. En particulier, Ackroyd et Hopkins, Gelling ont fait voir que, sans la présence d'arginine ou d'histidine dans la ration, l'équilibre azoté ne peut être maintenu et que la croissance est impossible. On retrouve donc chez les animaux supérieurs ce que nous avions constaté pour le bacille. Quant aux extractifs, des recherches récentes sur la carnosine et la créatine montrent que la première est une βalanyl-histidine, et que la seconde contient le même groupement guanidine que l'arginine; cela semble rapprocher leur cas de celui des acides aminés. Ainsi, l'expérience montre qu'on peut étendre aux microbes la notion d' « acides aminés indispensables ». Nous voyons que dans le métabolisme d'organismes aussi éloignés dans l'échelle des êtres vivants que les Mammifères (rat, souris) et un Microbe (bacille de Koch), le noyau imidazolique (histidine, carnosine) et celui de la guanidine (arginine) joue un rôle important.

Utilisant nos résultats, Frouin a entrepris une série de recherches pour voir si les bacilles tuberculeux de différentes races cultivés sur un même milieu synthétique avaient une composition différente. Il a étudié, en particulier, la teneur en matières grasses de ces bacilles. Il a observé qu'en effet, chaque race a une teneur caractéristique en acides gras; le bacille humain en contient environ 20 p. 100, le bacille bovin, 30 à 35 p. 100; le bacille aviaire, 35 à 40 p. 100. Ces intéressants résultats étendent aux microbes la notion d' « indices lipocytiques » caractéristiques.

D'autre part, Frouin a examiné la composition du bacille tuberculeux cultivé sur milieu sans glycérine. Dans ce cas, la teneur du bacille en acides gras descend, dès la première culture, à 14 et 8 p. 100.

XV

EXPÉRIENCES SUR L'HYPERGLOBULIE DES ALTITUDES

I. — **Expériences faites en montagne** (avec ARMAND-DELILLE, 15, 17, 33)

A) Des cobayes transportés en dix heures de l'altitude de 1 409 mètres à celle de 4 554 mètres, puis examinés à 3 900 mètres, n'ont pas tous présenté de l'hyperglobulie. Quand ce phénomène existait, il n'était pas proportionnel à l'altitude. Il s'agissait seulement dans ce cas, d'une pseudohyperglobulie. En effet, d'une part, on l'a observée seulement dans le sang périphérique et jamais dans le sang des vaisseaux centraux; et, d'autre part, nous avons constaté une bien plus forte disproportion en montagne qu'à Paris, entre le nombre des globules du sang des vaisseaux périphériques et celui des globules du sang des vaisseaux centraux.

B) Les mêmes constatations ont pu être faites sur des cobayes au cours d'une ascension rapide (ascension de 1 620 mètres à 3 136 mètres, en une heure et demie).

C) Des lapins ont été apportés de Paris à la station du Lautaret (2 070 mètres) et y ont séjourné une semaine. Quelques animaux ont présenté de l'hyperglobulie; mais à l'examen de préparations du sang de ces animaux, nous n'avons observé aucune figure histologique pouvant indiquer qu'il existait une néo-formation de globules rouges. De même l'examen histologique des organes hématopoïétiques ne nous a permis de déceler aucun phénomène de néo-formation sanguine.

II. — **Expériences faites en ballon** (35)

Au cours d'une ascension faite en ballon avec L. et M. LAPICQUE, nous avons fait des numérations de globules sur un lapin. Nous prenions le sang dans les oreilles, après avoir sectionné le sympathique d'un côté. Les variations du nombre de globules ont été beaucoup plus fortes du côté sain que du côté opéré.

III. — **Effet du froid sur l'hyperglobulie**

Les expériences précédentes tendaient à montrer que l'hyperglobulie est le résultat des phénomènes vaso-moteurs. Ceux-ci pouvant se produire sous l'influence du froid, nous avons étudié l'action du froid sur l'hyperglobulie. Les expériences faites avec LAPICQUE ont montré que sous l'influence du froid, il se produit une hyperglobulie dans les vaisseaux périphériques.

XVI

ÉTUDE DE L'ACTION DES RADIATIONS DU RADIUM SUR LES HÉMATIES

(18, 19)

M. et Mme Curie ayant bien voulu, en 1903, mettre à notre disposition un des premiers échantillons de radium qu'ils avaient préparés (0 g. 10), nous avons étudié, Victor Henri et moi, l'action du radium sur les hématies pour voir si les radiations influaient sur la perméabilité des globules.

1° *Action sur l'hémoglobine.* — Notons d'abord qu'après une certaine durée d'action, la couleur des globules varie. Cela est dû au fait que les radiations du radium agissent sur l'hémoglobine.

L'oxyhémoglobine de chien et de grenouille devient brunâtre après trois heures d'irradiation, et, au spectroscope, la raie de la méthémoglobine apparaît. Après sept heures d'action, la solution est tout à fait brune. Nous avons étudié le phénomène au spectrophotomètre, ce qui nous permet d'affirmer que l'hémoglobine est peu à peu transformée en méthémoglobine.

2° En outre de cette action sur la matière colorante du sang, les radiations du radium en exercent une sur les globules rouges eux-mêmes. Les globules soumis à leur action pendant huit à neuf heures, se comportent, vis-à-vis des solutions dans lesquelles ils sont plongés, autrement que les globules normaux. Leur « résistance » est diminuée. C'est-à-dire qu'ils abandonnent de l'hémoglobine et des sels à des solutions de sels ou de sucre, qui laissent intacts les globules normaux et qu'ils abandonnent plus d'hémoglobine et de sels que les globules normaux aux solutions hypotoniques.

Nous nous sommes demandé s'il ne s'agissait pas d'une action exercée sur la lécithine, analogue à celle que Schwartz avait observée en faisant agir les radiations du radium sur l'œuf de poule.

En outre de l'action sur les globules rouges, nous avons étudié l'action des radiations sur certains ferments : l'invertine, l'émulsine, la trypsine soumises à l'action des radiations perdent progressivement leur activité et au bout de plusieurs jours d'exposition, deviennent complètement inactives.

XVII

RECHERCHES SUR LE MODE D'ACTION DE LA PIQÛRE DIABÉTIQUE. ROLE DES CAPSULES SURRÉNALES.

(65, 98)

CL. BERNARD a établi que la piqûre du plancher du quatrième ventricule provoque une hyperglycémie qui se produit lentement et qui est suivie d'une glycosurie marquée; que l'excitation des nerfs splanchniques a les mêmes effets que la piqûre, qu'après section des splanchniques, celle-ci reste sans action.

D'autre part, BLUM (1902) a montré que l'injection d'adrénaline dans les veines, est suivie d'une hyperglycémie se traduisant bientôt par une glycosurie. Le fait a été confirmé et étudié notamment par N. PATON, DOYON, BIERRY, LALOU, Mme GATIN-GRUZEWSKA.

Or, l'adrénaline est un des produits des glandes surrénales, et ces glandes sont innervées par les nerfs splanchniques. Je me suis demandé s'il n'y a point de connexion entre l'action des surrénales et celle de la piqûre diabétique.

Avant de répondre à cette question, une expérience préliminaire était nécessaire. Elle consistait à enlever les surrénales, à faire ensuite la piqûre, et à observer ses effets.

Expériences. — J'ai opéré sur des séries de lapins. Comme le résultat cherché est un résultat négatif (absence de glucose dans l'urine), la réponse ne peut être qu'un fait de statistique; et il y a lieu de multiplier les expériences.

1° A une première série de lapins — témoins — j'ai fait une large laparotomie. J'ai laissé les intestins hors de la cavité abdominale pendant cinq minutes; parfois même, j'ai déchiré le tissu cellulaire dans la région rénale; puis j'ai vidé la vessie, posé une ligature sur l'urèthre, remis les intestins en place et suturé la paroi. J'ai fait alors la piqûre de CLAUDE BERNARD. Dans ces conditions, j'ai obtenu une glycosurie absolument nette (réduction de la liqueur de FEHLING, présence de glucose décelable par les osazones) six fois sur dix expériences.

2° A une autre série de lapins, j'ai enlevé les capsules surrénales. La glande gauche est facile à énucléer; je l'excisais après avoir lié les vaisseaux. La droite est, comme on sait, intimement accolée à la veine cave; je la détachais aussi complètement que possible, puis je pédiculisais la paroi de la veine, liais le pédicule, et excisais la capsule. Je me suis assuré que cette pédiculisation — d'ailleurs peu marquée — n'interrompt pas le cours du sang dans la veine cave. Je suturais alors la

paroi abdominale et, après avoir vidé la vessie et lié l'urèthre, je faisais la piqûre.

Dans ces conditions, j'ai opéré vingt-cinq lapins. Aucun d'eux n'a présenté de glycosurie, dans les huit heures suivant l'opération.

J'ai conclu : Après l'ablation des capsules surrénales, la piqûre de CLAUDE BERNARD ne provoque pas la glycosurie.

Ces expériences ont été le point de départ de très nombreuses études, notamment celles de WATERMAN et SMIT, WERTHEIMER et BATTEZ, KAHN, DJENAB, BRUCKE, KAHN et STARKENSTEIN, GAUTRELET et THOMAS, LANDAU, NEGRIN Y LOPEZ, MAC CLEOD et PEARCE, JARISCH, QUINQUAUD.

XVIII

RECHERCHES SUR LA FORMATION DU FOIE GRAS AU COURS DU GAVAGE DE L'OIE

(157)

Un certain nombre de chercheurs se sont préoccupés de la formation du foie gras chez l'oie, des conditions et du mécanisme de cette modification du tissu hépatique. Certains auteurs (Lebedeff), n'ont pu obtenir de foie gras par une suralimentation prolongée; ils ont pensé que ce phénomène n'apparaît que grâce à une intoxication concomitante. D'autre part, on a avancé que le « foie gras » était la conséquence d'une dégénérescence primitive du foie, dégénérescence de nature lecithique (Balthazard). Nous avons repris avec Schaeffer, Rathery, Terroine, l'étude de cette question, en suivant l'engraissement des oies d'une manière systématique et en examinant le foie d'oie suralimenté au point de vue chimique et au point de vue histologique.

Nous avons constaté qu'il est parfaitement possible d'obtenir le foie gras par le simple gavage, sans intervention simultanée d'aucune substance toxique, mais seulement chez les jeunes sujets non arrivés à maturité sexuelle. L'engraissement n'est d'ailleurs pas localisé au foie; il y a d'abord une surcharge progressive et considérable des réserves adipeuses et c'est secondairement que le foie est atteint. Le phénomène n'a donc pas pour cause une dégénérescence primitive du tissu hépatique.

Les corps gras présents dans le « foie gras » ne semblent pas être des lécithines, mais bien des graisses neutres. En effet, au point de vue histologique, le chondriome du foie existe avec son aspect habituel dans le foie gras et dans le foie normal. Et il apparaît dans les cellules une quantité considérable de gouttelettes présentant les réactions microchimiques des graisses.

L'étude chimique montre que le rapport $\left(\frac{\text{acides gras}}{\text{phosphore lipoïdique}}\right)$ atteint une valeur de 490. Or, dans la lécithine distéarique ce rapport est de 18,3. Il y a donc évidemment dans le foie gras une quantité énorme d'acides gras non combinés au phosphore.

De plus ce rapport va augmentant progressivement au cours de l'engraissement; et enfin, l'indice d'iode des corps gras baisse progressivement de 95 environ à 70 environ, c'est-à-dire, jusqu'à atteindre la valeur de celui des graisses de réserve.

XIX

RECHERCHES SUR LES GAZ DE COMBAT

I. — Mode d'action des gaz de combat utilisés au cours de la guerre[1]

(166, 167, 168, 169, 170, 175)

Les études toxicologiques faites avant la dernière guerre sur les gaz nocifs, avaient attiré l'attention sur deux catégories de toxiques gazeux : 1° toxiques généraux atteignant toutes les cellules et pouvant déterminer, à certaines concentrations, une mort presque foudroyante par leur action sur le système nerveux : le type en est l'acide cyanhydrique ; 2° « poisons du sang », dont le type est l'oxyde de carbone qui provoque l'asphyxie en empêchant l'hémoglobine de jouer son rôle dans le transport de l'oxygène. En fait, l'acide cyanhydrique a bien été employé au cours de la guerre, mais les composés des deux classes que nous venons de rappeler n'ont pas joué le rôle prépondérant, ce sont des corps ayant un tout autre mode d'action que les armées ont mis en œuvre. Nous allons les passer rapidement en revue.

Un composé nocif peut agir soit en gênant l'exercice d'une fonction physiologique importante, soit en lésant un appareil indispensable de l'économie. On peut donc classer les corps nocifs d'après les effets qu'ils exercent. Mais il faut remarquer que certains composés peuvent être doués de plusieurs propriétés nocives différentes, et appartenir de ce fait à plusieurs catégories.

Dès 1915, nous avons pu montrer qu'un grand nombre de corps, très différents les uns des autres par leur composition chimique, cétones bromées, chlorosulfate de méthyle, oxychlorure de carbone, chloroformiate de méthyle chloré, chloropicrine, corps auxquels est venu se joindre plus tard l'acroléine, tuent les Mammifères, lorsqu'ils sont inhalés, non pas directement par un effet toxique général, mais indirectement par l'sction qu'ils exer-

1. En novembre 1915, nous avons été chargé de créer, à l'Inspection des Etudes et Expériences Chimiques, le service d'études physiologiques des corps nocifs utilisés au combat. Bientôt après, l'Académie des Sciences nous désignait pour étudier le mode d'action des substances toxiques mises en œuvre par nos ennemis. Notre service a été établi sur le principe de la division du travail et de la coopération étroite entre physiologistes, histologistes et chimistes. Toutes les études y ont été faites en commun et ont été le fruit du travail de tous. Les recherches physiologiques ont été poursuivies en collaboration avec Magne et Plantefol ; les études histologiques, avec Fauré-Frémiet et Guieysse ; hématologiques, avec Jolly ; ophtalmologiques, avec Mawas ; spectroscopiques, avec Vlés ; chimiques, avec Morel et Hervieu. Muratet et Moreau ont étudié quelques points spéciaux d'histologie. L'expérimentation très étendue à laquelle nous nous sommes livrés pendant trois ans a porté sur plus de 16 000 animaux et les résultats en ont été consignés dans plus de 750 notes et rapports.

cent sur l'appareil respiratoire dont ils annihilent la fonction. Tous les composés de ce genre ont été réunis au chlore et aux vapeurs nitreuses dont on connaissait déjà le mode d'action, sous le nom générique de composés asphyxiants.

Lorsqu'un de ces composés pénètre dans les voies respiratoires, il provoque une série d'effets successifs :

1° Pendant une courte période, il détermine d'abord *une action nerveuse réflexe* que nous avons analysée avec MAGNE et PLANTEFOL. Cette action, qui met en jeu une série de réflexes antagonistes, les uns déjà connus, les autres non encore signalés, aboutit au phénomène de la suffocation. Elle peut être assez puissante pour amener la mort, mais seulement dans des cas tout à fait exceptionnels. En général, la plupart des actions nerveuses ainsi mises en jeu se calment assez rapidement ; 2° à ce moment commence une période de tranquillité apparente qui peut durer plusieurs heures, mais pendant laquelle les corps toxiques, entrés en contact avec la muqueuse pulmonaire, *réagissent avec cette muqueuse*. Certains d'entre eux sont transformés (le chlore donne de l'acide hypochloreux ; les éthers sont saponifiés, etc...). Les produits de la réaction provoquent une altération de la muqueuse, assez importante pour être révélée par l'analyse. Alors s'installent les lésions du poumon, lésions caractéristiques qui sont la congestion et surtout l'œdème pulmonaire. Une étude histologique serrée du mode d'action des composés asphyxiants sur la muqueuse a été poursuivie avec FAURE-FRÉMIET et GUIEYSSE. On se rendra compte de l'importance de ces lésions quand on saura que le liquide d'œdème arrive à former 60 p. 100 du poids du poumon atteint ; 3° à ce moment la lésion retentit sur l'organisme par un mécanisme que nous avons pu dégager. Le liquide d'œdème est perméable à l'acide carbonique, mais demeure imperméable à l'oxygène. *Il en résulte une asphyxie*, non pas par excès d'acide carbonique, mais par *défaut d'oxygène*. C'est cette asphyxie qui amène la mort. En dehors de l'action asphyxiante, le retentissement général sur l'organisme est extrêmement faible. Le foie, le rein sont à peine touchés ; 4° lorsque le sujet survit, les lésions pulmonaires *peuvent laisser des séquelles* (emphysème, sclérose).

II. D'autres composés ont, comme action dominante, surtout des effets *irritants*. Tels sont les effets lacrymogènes des cétones bromées, des bromures de benzyle et de xylile, de la chloropicrine ; l'effet sternutatoire des arsines halogénées ; l'effet nauséeux de la phénylcarbylamine dichlorée.

III. Un troisième groupe, très important, est constitué par des corps qui ont sur la peau et les muqueuses une *action vésicante*. Tels sont le sulfure d'éthyle dichloré et certaines arsines chlorées : 1° ces corps, lorsqu'ils atteignent l'œil, déterminent de la congestion, du larmoiement, de l'œdème de la conjonctive et des paupières, puis des effets plus profonds que nous avons étudiés avec MAWAS ; 2° lorsqu'ils atteignent les téguments, ils provoquent l'apparition de lésions très remarquables, allant de l'érythème jusqu'aux bulles et aux phlyctènes, accompagnées d'une désorganisation plus ou moins profonde des éléments malpighiens et du réseau capillaire superficiel ; 3° ces actions sur l'œil et les téguments sont les plus immédiatement frappantes, mais ce ne sont pas les plus nocives. Ces corps vésicants sont toxiques par un autre mode d'action. Ils pénètrent dans l'appareil respiratoire et y déterminent des lésions profondes. Tout d'abord la muqueuse des voies aériennes est atteinte. Elle peut être non seulement congestionnée et œdématiée, mais encore désor-

ganisée plus ou moins profondément. L'altération produite dans ce cas s'accompagne de la formation d'escarres et de fausses membranes très considérables qui peuvent obstruer les voies aériennes. Cette obstruction provoque l'asphyxie par accumulation d'acide carbonique aussi bien que par défaut d'oxygène. Ensuite, si la pénétration est plus profonde, le parenchyme pulmonaire lui-même se trouve lésé. De vastes territoires sont frappés d'incapacité fonctionnelle par l'apparition d'hémorragies, d'infarctus et d'œdème fibrineux obstruant les alvéoles nécrosées et bientôt transformées en une masse purulente; 4° c'est par cette action sur l'appareil respiratoire que les composés vésicants déterminent la mort. Mais il faut ajouter que les corps de ce groupe ont, en outre de cette action locale, une action toxique générale très importante; les sulfures d'éthyle halogénés en particulier provoquent toute une série de troubles des principales fonctions de l'économie.

Tels sont les effets principaux des gaz de combat. Parmi les faits mis à jour au cours de nos études et qui ont été publiés dans les notes et mémoires dont on trouvera les titres à l'index bibliographique, nous allons en signaler quelques-uns à cause de leur intérêt physiologique et pharmacologique.

II. — Réflexes provoqués par l'irritation des premières voies respiratoires Action sur les échanges généraux de l'organisme (169)

Lorsque les gaz irritants pénètrent dans les premières voies respiratoires, ils provoquent une série d'effets réflexes que nous avons analysés avec Magné et Plantefol.

Pour les étudier, il faut les isoler de l'ensemble des phénomènes respiratoires, et, pour cela, faire porter l'action de la vapeur irritante sur les premières voies seulement. Nous avons, pour y parvenir, employé des dispositifs qui permettent de faire respirer à l'animal de l'oxygène pur, tout en faisant circuler dans ses premières voies respiratoires isolées un mélange exactement titré d'air et de gaz nocif; un artifice permettait de faire commander l'aspiration du mélange par les mouvements respiratoires de l'animal lui-même qui, tout en respirant de l'oxygène par les poumons, faisait circuler dans ses premières voies une quantité de mélange nocif, exactement égale à celle de cet oxygène inhalé par lui.

Les gaz irritants agissent tout d'abord sur la muqueuse nasale et leur premier effet est de déterminer un réflexe déjà signalé et étudié par François-Franck et par Marchena. C'est un arrêt respiratoire dû à la cessation des mouvements externes et internes de la respiration, un ralentissement du cœur dont les battements deviennent très rares, et une vaso-constriction générale, mais particulièrement splanchnique. On peut s'assurer de ces faits, comme l'ont fait les auteurs précédents, en enregistrant les mouvements respiratoires et circulatoires par la méthode graphique. On peut aussi les mettre en évidence par des méthodes différentes. Par exemple, si l'on mesure la ventilation, ou quantité d'air débité par les poumons, au moyen de dispositifs de Chauveau et Tissot, on voit que chez le lapin, dont on irrite les premières voies, le ventilation peut tomber de 2 l. 893 en cinq minutes à 0 l. 241, de 3 l. 600 à 0 l. 590, de 3 l. 886 à 0 l. 301. En même temps, si l'on mesure la durée d'une révolution circulatoire par la méthode de Stewart, on voit qu'elle passe de 2"3/5 à 18"; de 2"1/5 à 20", etc.

Ce phénomène d'arrêt respiratoire et circulatoire ne se produit plus si l'on cocaïnise les premières voies ou si l'on coupe les nerfs trijumeaux avant le passage du gaz nocif. Il

s'agit donc de réflexes dont le point de départ est dans l'irritation des terminaisons de ces nerfs. Les phénomènes se produisent encore sur l'animal anesthésié par le chloraloses. Les différantes espèces animales ont une sensibilité des premières voies et, partant, une aptitude extrêmement inégales à présenter les réflexes d'arrêt. Nous nous sommes assurés, par des mesures précises, que le lapin et le cheval sont parmi les animaux les plus sensibles, le chien parmi les moins sensibles.

Lorsqu'on choisit un animal sensible et qu'on dispose d'un gaz particulièrement irritant, l'excitation peut être telle que l'arrêt respiratoire est définitif. Le cœur continue à battre, mais malgré le respiretion artificielle aussitôt pratiquée et continuée longtemps (quinze à vingt minutes), nous n'avons jemais vu reparaître les mouvements respiratoires spontanés. La mort survient par syncope respiratoire irrémédiable. Il est donc des circonstances où l'irritation des terminaisons nasales du trijumeau peut déterminer la mort. Si la dose de gaz nocif employée n'est pas massive et mortelle, son action peut être prolongée pendant un temps très long (une demi-heure, par exemple). Pendant tout ce temps, les réflexes qu'elle provoque peuvent persister.

Ces phénomènes respiratoires et circulatoires ne sont pas les plus remarquables de ceux que détermine l'irritation des premières voies.

Le phénomène le plus important est le suivant :

Pendant tout le temps qu'on irrite les premières voies, l'oxygène consommé par l'animal et l'acide carbonique produit par lui diminuent dans les proportions considérables.

Voici des exemples de ce phénomène observé sur le lapin :

Tableau I

Minute.	Ventilation en 5 minutes (lit. à 0°760).	O^2 consommé (cm³).	CO^2 produit (cm³).
0	3,886	93	89
7	0,301	7	7
15	0,245	7	6
32	0,236	13	12
39	1,790	78	89
47	2,120	67	76

Passage de gaz irritant (Cl) dans les premières voies de la minute 5 à la minute 35.

Tableau II

Minute.	Ventilation en 5 minutes (lit. à 0°760).	O^2 consommé (cm³).	CO^2 produit (cm³).
0	2,947	118	87
7	2,832	123	96
14	1,382	62	48
19	1,584	66	67
30	1,382	66	71
37	2,799	106	120

Passage de gaz irritant (Cl) dans les premières voies de la minute 12 à la minute 35.

Ainsi l'irritation des terminaisons du trijumeau peut abaisser, pendant une demi-heure, les échanges gazeux à une petite fraction de leur valeur normale. Ce phénomène est à rapprocher de celui qu'a observé Charles Richet sur les oiseaux plongeurs, mais il est ici beaucoup plus marqué. Il n'est pas sous la dépendance du ralentissement circulatoire : si l'on coupe les vagues, l'irritation ne produit plus le ralentissement du cœur mais la diminution des échanges persiste.

Il s'agit bien d'une diminution réelle des échanges généraux et non des échanges respiratoires seuls. En effet, l'analyse du sang montre que, pendant tout le temps que dure l'action réflexe, la quantité d'oxygène contenue dans le sang ne diminue que très peu et que la quantité d'acide carbonique du sang ne s'accroît pas.

Voici un exemple de ce fait observé chez le lapin :

Gaz du sang

Temps en minutes.	O^2 à 0° (cm³ p. 100).	CO^2 à 0° (cm³ p. 100).	Ventilation (litres).
—	—	—	—
1	16,2	23,2	1,600
4	Début du passage du gaz irritant dans les premières voies respiratoires.		
8	15,2	25,2	0,460
12	14,0	20,1	0,575
17	14,3	29,2	0,650
20	Fin du passage		
23	12,8	24,2	0,950
33	11,3	24,9	0,900
63	13,0	29,3	1,025

L'irritation des terminaisons du trijumeau, chez certains Mammifères sensibles, a donc pour effet de provoquer, pendant plus d'une demi-heure, une diminution réflexe des échanges généraux de l'organisme, qui peuvent être abaissés jusqu'à une valeur très faible par rapport à la normale.

III. — Action réflexe produite par l'irritation des voies respiratoires profondes. Antagonisme de ce réflexe avec ceux que provoque l'irritation des premières voies respiratoires.

1. Action respiratoire réflexe de l'irritation des voies aériennes profondes. — Nous avons montré dans le paragraphe précédent que le contact d'une vapeur irritante avec les premières voies respiratoires détermine, en même temps qu'un ralentissement ou un arrêt respiratoire et circulatoire, une diminution des échanges généraux. Lorsque la vapeur est inhalée plus profondément, ou que, par une canule trachéale, on la fait directement pénétrer dans les bronches et les poumons, on assiste à des phénomènes tout différents, que nous avons étudiés avec Magne et Plantefol.

Tout d'abord, il se produit fréquemment une expiration brusque suivie de quelques

respirations saccadées. Puis, si l'on continue l'inhalation, il se produit toujours un phénomène typique : la respiration s'accélère, et il apparaît une véritable polypnée. Cette polypnée, par irritation des voies profondes, a des caractères particuliers :

1° Elle peut être intense ; le nombre des respirations, après inhalation de vapeurs irritantes pendant dix secondes, peut passer de 48 à 120, de 44 à 236 ;

2° Elle se produit, quel que soit le type antérieur de la respiration, et même si celle-ci est déjà rapide.

3° Elle est durable et se prolonge parfois une demi-heure après un passage de vapeurs irritantes dans le poumon n'ayant duré que cinq secondes ;

4° Elle a souvent une allure périodique, avec crises d'accélération extrême ;

5° Les différents animaux paraissent également sensibles à l'irritation des voies profondes et présentent également la polypnée.

Cette polypnée est un phénomène réflexe. Elle ne se produit plus si l'on a, avant l'inhalation des vapeurs irritantes, coupé les pneumogastriques. Elle cesse si l'on sectionne les vagues après qu'elle a commencé. Elle est donc due à l'excitation des terminaisons de ces nerfs. On peut d'ailleurs s'assurer que cette excitation par les vapeurs irritantes et l'effet respiratoire réflexe ainsi produit sont beaucoup plus intenses et d'un tout autre caractère que ceux qu'on peut obtenir par l'excitation électrique du bout central des pneumogastriques sectionnés.

La polypnée réflexe dont nous venons de montrer l'existence a naturellement pour effet une augmentation de la ventilation pulmonaire. Par exemple, chez le chien, celle-ci peut passer de 7 l. 35 à 12 l. 12 ; chez le lapin, de 1 l. 080 par minute à 3 l. 410. Mais à cette augmentation de ventilation ne correspond aucune augmentation des échanges organiques. Au contraire, le plus souvent, à la suite de l'atteinte du tissu pulmonaire par la vapeur irritante, la quantité d'oxygène retenue par l'animal diminue.

Ainsi, tandis que, à la suite de l'irritation des premières voies respiratoires, l'animal arrête sa respiration, empêchant ainsi la pénétration de la vapeur toxique, si celle-ci a atteint les bronchioles, l'animal accélère sa respiration et ventile énergiquement les poumons. Ces deux actions sont inverses. Nous allons montrer qu'elles sont, de plus, antagonistes.

II. Antagonisme entre les réflexes dus a l'irritation des premières voies respiratoires et ceux que provoque l'irritation des voies profondes. — 1° On fait pénétrer par une canule trachéale un gaz irritant dans les poumons. On détermine la polypnée réflexe décrite plus haut. Si alors, on fait passer dans les premières voies isolées un gaz irritant, on arrête la polypnée et l'on suspend même la respiration pendant tout le temps que dure le contact du gaz irritant avec les premières voies respiratoires.

2° On fait pénétrer une vapeur irritante dans les premières voies isolées. On provoque l'arrêt de la respiration. Si à ce moment on insuffle la vapeur irritante dans le poumon, la respiration reprend et la polypnée s'installe.

3° Nous avons montré précédemment qu'on peut, sur un animal d'espèce sensible, en mettant une vapeur très irritante en contact avec les premières voies respiratoires, déterminer une syncope respiratoire mortelle.

On fait cette expérience, et l'on s'assure que l'arrêt respiratoire est définitif, que la

respiration naturelle ne reprend pas, même si l'on pratique pendant une ou deux minutes, la ventilation forcée (respiration artificielle). Si alors on insuffle dans le poumon une vapeur irritante, la respiration naturelle reprend. On rétablit ainsi l'animal, qui, sans cela, mourrait de syncope respiratoire.

Il y a donc bien antagonisme entre les réflexes dus à l'irritation des terminaisons du vague et ceux dus à l'irritation des terminaisons du trijumeau.

III. Efficacité du réflexe dû a l'irritation des voies respiratoires profondes. Action sur la syncope respiratoire d'origine centrale. — On peut montrer l'efficacité de l'irritation des voies profondes d'une autre manière encore. On sait qu'on peut déterminer chez le lapin un arrêt respiratoire par action sur les centres; par exemple, en anesthésiant profondément l'animal par le chloralose, ou en lui administrant un décalcifiant comme l'oxalate de soude à dose suffisante, le centre respiratoire cesse de fonctionner. La respiration s'arrête tandis que le cœur continue à battre. Or, si chez un animal ainsi mis en état de syncope respiratoire d'origine centrale, on détermine une irritation des voies profondes par insufflation d'un gaz nocif, la syncope cesse, la respiration spontanée reprend.

IV. Rôle des réflexes respiratoires antagonistes dans les phénomènes de la suffocation. — Chez les animaux d'espèces sensibles, l'irritation simultanée des premières voies respiratoires et des voies profondes a donc pour effet de déterminer en même temps deux ordres d'actions réflexes antagonistes. Il en résulte une tendance irrésistible à la fois à arrêter et à accélérer la respiration. Le rythme respiratoire devient alors désordonné, spasmodique, convulsif. La suffocation apparaît. Elle est due à la mise en jeu en même temps, de ces deux impulsions antagonistes.

IV. — La lipase du tissu pulmonaire (164)

On a signalé à plusieurs reprises que les extraits de tissu pulmonaire broyés ou pressés, contiennent une lipase, une éthérase (Siaber, Saul, Pagenstecher, Rona, Berczeller et Isar). Nous avons fait de cette lipase une étude systématique. Nous avons avec P. Morel, confirmé le fait que le tissu pulmonaire agit sur les corps à structure d'éther; il les hydrolyse. Il dédouble les éthers et les glycérides. Ce dédoublement est dû à une diastase qui possède des caractères différents de ceux de la lipase pancréatique; en effet, la présence des sels biliaires ne favorise pas son action.

Le dédoublement des corps sur lesquels elle agit aboutit à un équilibre. La vitesse d'hydrolyse par cette lipase, très grande au début de l'action, va en diminuant progressivement avec le temps. Cette vitesse s'accroît avec la concentration du ferment. La concentration en ferment agit aussi en apparence sur l'état final. Ce phénomène est dû à une inactivation progressive du tissu pulmonaire par les produits de la réaction.

Si l'on fait agir la lipase pulmonaire sur une série d'éthers ou de glycérides d'acides ou d'alcools de poids moléculaire croissant, on voit qu'elle les attaque inégalement. Par exemple dans la série des glycérides, le dédoublement est de plus en plus marqué en passant de la triacétine à la tripalmitine (la lipase pulmonaire dédouble plus de tripalmitine

que le suc pancréatique non activé). D'une façon générale, on constate que l'action de la diastase est de plus en plus grande quand on s'élève dans la série jusqu'à un certain terme pour lequel elle est maxima et au delà duquel elle décroît. La lipase pulmonaire agit sur les éthers aromatiques comme sur les éthers de la série grasse.

V. — Composition du liquide d'œdème apparaissant dans le poumon au cours de l'œdème aigu expérimental (177)

On possède un assez grand nombre d'analyses de liquides d'œdème, de transsudats et d'exsudats pathologiques. Mais parmi ceux-ci, le liquide d'œdème pulmonaire ne semble pas avoir été étudié. C'est, d'une part, qu'il paraissait difficile d'en recueillir une quantité suffisante pour l'analyse ; et, d'autre part, qu'on observe rarement en clinique des cas d'œdème pulmonaire pur. Le plus souvent, l'œdème s'accompagne d'hémorragie ou d'inflammation, processus qui sont de nature à changer la composition du liquide extravasé.

Or, un certain nombre de gaz utilisés comme gaz de combat ou encore la vapeur d'eau bouillante permettent de produire expérimentalement un œdème aigu. Nous avons imaginé une méthode permettant de recueillir le liquide d'œdème ainsi formé. Cette méthode est basée sur l'emploi de la centrifugation appliquée aux fragments de poumon atteint. Elle permet de séparer le liquide d'œdème du tissu. Avec P. Morel, nous avons étudié ce liquide.

La quantité de liquide exsudé dans le poumon peut être considérable. Elle peut atteindre jusqu'à 60 p. 100 du poids de l'organe.

Ce liquide contient de l'eau (environ 92 p. 100), des albumines coagulables par la chaleur (55 à 60 gr. par litre). Son point cryoscopique est compris entre 0,68 et 0,62. Il contient des chlorures (6 à 7 gr. par litre), des phosphates, des carbonates, de l'urée, de l'ammoniaque et d'autres formes d'azote non protéique ; du glucose (1 gr. 20 par litre environ) ; de la cholestérine ; des composés donnant par saponification des acides gras fixes en quantité notable ; et une quantité de phosphore lié aux lipoïdes qui se trouvent dans un rapport assez fixe avec celle des acides gras.

La composition de ce liquide se rapproche de celle du plasma. Il contient un peu plus d'eau et d'albuminoïdes coagulables par la chaleur, à peu près autant de chlorures et parfois plus de phosphates et de carbonates. On y trouve toujours plus d'azote non protéique (urée, ammoniaque, azote résiduel) ; plus de glucose, plus de composés lipoïdiques phosphorés.

VI. — Sur les propriétés pharmaco dynamiques de quelques éthers-sulfures halogénés (sulfures d'éthyle dichloré et dibromé, sulfure de propyle dichloré) (172, 173, 176).

Le sulfure d'éthyle dichloré exerce une action tout à fait caractéristique sur les téguments : c'est une action vésicante dont les modalités vont de la sinapisation, de l'érythème

à l'apparition de phlyctènes, de vésicules, de bulles, d'œdèmes et, dans certains cas et chez certains animaux, à la mortification des téguments.

Cette action vésicante s'exerce sur l'appareil oculaire comme sur la peau ; elle produit de la congestion et de l'œdème des conjonctives et des paupières, l'inflammation des glandes et des voies lacrymales, l'opalescence, l'érosion et parfois l'ulcération de la cornée, enfin, plus rarement, l'inflammation des membranes profondes de l'œil.

Lorsque le composé nocif pénètre dans l'appareil respiratoire sous forme de vapeurs ou de gouttelettes, il détermine des lésions de la muqueuse du larynx, de la trachée, des bronches et des bronchioles : on constate la désorganisation de l'épithélium, la congestion et l'œdème, l'ulcération du chorion, son infiltration par les leucocytes ; enfin, la formation de fausses membranes considérables qui peuvent obstruer tout ou partie des voies respiratoires et amener rapidement l'asphyxie. Lorsque le composé pénètre jusqu'au poumon, il y détermine de la congestion, des hémorragies, de l'œdème bientôt envahi par les leucocytes, une dégénérescence du tissu se traduisant par l'induration brune de certains lobules avec emphysème de compensation. Plus tardivement se développent des lésions analogues à celles de la broncho-pneumonie.

Ces phénomènes, qui prennent naissance après le contact direct des tissus avec le sulfure d'éthyle dichloré, ne sont pas les seules actions physiologiques que peut avoir ce corps. C'est, en effet, un toxique général et il se montre tel, quelle que soit sa voie d'introduction dans l'organisme. Cette action toxique n'est pas le fait de l'altération de l'hémoglobine du sang, elle est plus profonde ; on en a le témoignage dans les modifications considérables qu'elle fait subir aux éléments figurés du sang et notamment aux leucocytes. Le sulfure d'éthyle dichloré agit en effet sur les principaux appareils de l'économie.

Sur l'appareil neuro-musculaire : aux doses fortes, c'est un poison convulsivant ; aux doses faibles, c'est un poison stupéfiant.

Sur l'appareil circulatoire : il détermine une chute de la pression artérielle qui n'est pas le fait d'une action vaso-motrice, mais d'une action directe sur le cœur.

Sur l'appareil digestif : il amène une hypersécrétion des glandes annexes du tube digestif en même temps qu'il produit de graves lésions de l'intestin.

Enfin, il agit sur le cours de la lymphe à la manière des lymphagogues.

Cette action généralisée retentit profondément sur le métabolisme général et se traduit par l'amaigrissement progressif du sujet intoxiqué et l'augmentation corrélative de ses éliminations urinaires.

Le sulfure d'éthyle dibromé, le sulfure de propyle dichloré ont des actions analogues à celles du sulfure d'éthyle dichloré.

VII. — Action physiologique de l'éther diméthylique dichloré symétrique (174)

Plusieurs éthers-oxydes halogénés sont des composés nocifs à cause de l'irritation des voies respiratoires et les lésions du poumon qu'ils déterminent. Mais parmi eux, l'éther diméthylique dichloré symétrique mérite de retenir l'attention par une autre propriété. Il fournit, on va le voir, un exemple très curieux de spécificité pharmacologique que nous avons étudié avec Plantefol et Aug. Tournay.

I. Action irritante et toxique de l'éther diméthylique dichloré. — Lorsqu'on place un sujet dans un mélange d'air et de vapeurs d'éther diméthylique dichloré, on constate que ce corps est un peu irritant pour les yeux sans être à proprement parler lacrymogène. Il n'est pas vésicant. Mais il est irritant et pour les premières voies respiratoires et pour les voies respiratoires profondes. Lorsqu'on laisse des chiens ou des chats pendant trente minutes dans le mélange d'air et de vapeurs, on constate que les animaux meurent dans les cinq jours qui suivent l'inhalation, si la dose de vapeurs atteint 2 grammes par mètre cube d'air pour le chien, moins de 1 gramme par mètre cube d'air pour le chat. La mort est due à l'apparition d'un oedème pulmonaire qui peut être massif. L'éther diméthylique dichloré se range donc dans la catégorie des corps suffocants et asphyxiants.

II. Action spécifique de l'éther diméthylique dichloré. — Les chiens à qui l'on fait inhaler le mélange nocif ne présentent tout d'abord rien d'autre qu'un peu de gêne respiratoire et quelquefois un léger tremblement, de la salivation, des vomissements. Ce sont là des faits banaux après l'inhalation de produits irritants. Mais environ deux heures après l'inhalation, quand les animaux ont été placés dans le mélange contenant 2 grammes de substance par mètre cube et plus tôt si la dose inhalée a été plus forte, les chiens abandonnés à eux-mêmes commencent à présenter des phénomènes singuliers. Il s'agit de troubles neuromusculaires très particuliers. A certains moments, sans que l'on soit averti par rien d'apparent, l'animal, jusque-là couché, est surpris par un mouvement brusque et irrésistible. Ce mouvement est généralement un mouvement de rétropulsion du tronc, analogue à celui du chien qui cherche à se relever. Moins fréquemment, on observe des mouvements de latéropulsion, mais toujours brusques et ne paraissant pas soumis à la volonté de l'animal. Quand le chien est debout et essaye de marcher, sa démarche est interrompue par des mouvements des membres très brutaux et exagérés. Il semble que ces mouvements aient pour objet de rattraper l'équilibre, qui se trouve violemment dérangé par les mouvements impulsifs du tronc. Après quelques essais de marche, l'animal tombe, ou bien il vient s'accoler à une paroi contre laquelle il demeure appuyé. Chaque fois que l'animal essaye de se déplacer, on assiste aux mêmes phénomènes : mouvements irrésistibles, perte de l'équilibre. Ces troubles durent deux ou trois heures, et les animaux, après ce temps, paraissent complètement épuisés. Ils demeurent couchés, immobiles.

Pendant tout le temps que durent les troubles que nous venons de décrire, on peut observer simultanément un phénomène frappant. Les animaux présentent un nystagmus extrêmement marqué. Chez tous ceux que nous avons vus, le nystagmus était vertical. L'abaissement des yeux se faisait très brusquement, et l'élévation un peu moins, sans être cependant très lente. Après vingt heures, tous ces symptômes disparaissent.

Fait remarquable, nous ne les avons observés que sur le chien. Les chats ne présentent rien d'analogue. Les lapins montrent des phénomènes convulsifs (convulsions toniques, puis cloniques), mais qui ne sont pas comparables aux symptômes que nous venons de décrire.

Ainsi l'éther diméthylique dichloré symétrique provoque chez le chien des troubles très particuliers de l'équilibration, accompagnés de nystagmus. Ce corps paraît donc avoir, dans cette espèce animale, une action spécifique sur l'appareil nerveux central assurant l'équilibration, et peut-être même, plus précisément, sur l'appareil labyrinthique.

TABLE DES MATIÈRES

Imprimerie de J. Dumoulin, à Paris. 840-1-22